

Akute zelluläre Transplantatabstoßung nach Lungentransplantation

-

Analyse infektions-assoziiertes Risikofaktoren und Bedeutung der bronchoalveolären Lavage im Rahmen der Abstoßungsdiagnostik

Inauguraldissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

des Fachbereichs Medizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Maike Alexandra Barowski

aus Offenbach am Main

Gießen 2020

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
(Medizinische Klinik II)
unter der Leitung von Prof. Dr. W. Seeger
des Fachbereichs Medizin der Justus-Liebig Universität

Gutachter: Prof. Dr. med. Konstantin Mayer

Gutachter: Prof. Dr. med. Gregor Bein

Tag der Disputation: 15.02. 2021

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VIII
1. Einleitung	1
1.1 Lungentransplantation	1
1.1.1 Geschichte der Lungentransplantation.....	1
1.1.2 Häufigkeit der Lungentransplantation.....	2
1.1.3 Überleben nach Lungentransplantation.....	3
1.1.4 Indikation, Kontraindikation und Allokation.....	4
1.1.5 Transplantationsimmunologie	6
1.1.5.1 Haupthistokompatibilitätskomplex.....	6
1.1.5.2 T-Lymphozyten.....	6
1.1.5.3 Transplantatabstoßung.....	7
1.1.6 Immunsuppressive Therapie nach Lungentransplantation	8
1.1.6.1 Induktionstherapie	9
1.1.6.2 Erhaltungstherapie	9
1.1.7 Komplikationen nach Lungentransplantation.....	10
1.1.7.1 Atemwegskomplikationen	10
1.1.7.2 Primäre Transplantatdysfunktion	11
1.1.7.3 Infektionen.....	12
1.1.7.4 Humorale Transplantatabstoßung	13
1.1.7.5 Akute Transplantatabstoßung.....	14
1.1.7.6 Chronische Transplantatabstoßung.....	17
1.2 Zytokine.....	19
1.3 Fragestellung und Zielsetzung.....	22
2. Material und Methoden	23
2.1 Materialien.....	23
2.1.1 Geräte.....	23
2.1.2 Reagenzien/Lösungen	23
2.1.2.1 KHB-Puffer (Krebs-Henseleit Puffer)	23
2.1.2.2 Zytokin-ELISA	24

2.2 Methoden	25
2.2.1 Studienprotokoll und Patienten	25
2.2.2 Immunsuppression und Prophylaxen	26
2.2.3 Spirometrie	27
2.2.4 Bronchoskopie	27
2.2.4.1 Transbronchiale Biopsie	28
2.2.4.2 Bronchoalveoläre Lavage	29
2.2.5 Definition von Infektion/Kolonisation, ACR und BOS.....	32
2.2.5.1 Infektion/Kolonisation der Atemwege.....	32
2.2.5.2 Akute zelluläre Abstoßung.....	36
2.2.5.3 Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom	38
2.2.6 Statistische Analyse.....	39
3. Ergebnisse	40
3.1 Demographie.....	41
3.1.1 Transplantationsindikation	41
3.1.2 Transplantationsverfahren	42
3.1.3 Geschlechtsverteilung.....	43
3.1.4 Transplantationsalter	43
3.1.5 CMV-Status	45
3.2 Infektion und Kolonisation	46
3.2.1 Bakterielle Infektion und Kolonisation der Atemwege.....	46
3.2.2 Mykotische Infektion und Kolonisation der Atemwege.....	48
3.2.3 Virale Infektion und Replikation der Atemwege	50
3.3 Akute zelluläre Abstoßung.....	51
3.4 Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom	54
3.5 Überlebensrate und Todesursache.....	56
3.6 Infektionsbedingte Risikofaktoren für das Auftreten einer ACR.....	57
3.6.1 Bakterielle Infektion und Kolonisation.....	57
3.6.2 Mykotische Infektion und Kolonisation	59
3.6.3 Virale Infektion und Replikation.....	59
3.7 Zell- und Zytokinmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR	62
3.7.1 Zellmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR	62
3.7.1.1 Gesamtzellzahl.....	62
3.7.1.2 Makrophagen	63
3.7.1.3 Neutrophile.....	64
3.7.1.4 Eosinophile.....	65

3.7.1.5 Lymphozyten	66
3.7.1.6 Lymphozytendifferenzierung.....	67
3.7.2 Zytokinmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR.....	69
3.7.2.1 Interleukin-1 β	70
3.7.2.2 Interleukin-8.....	71
3.7.2.3 Interleukin-10.....	73
3.7.2.4 Interleukin-17.....	75
3.7.2.5 MIP-1 α	76
4. Diskussion.....	77
4.1 Einführung.....	77
4.2 Demographie.....	78
4.2.1 Transplantationsindikation	78
4.2.2 Transplantationsverfahren	79
4.2.3 Transplantationsalter	80
4.3 Infektionen.....	81
4.3.1 Bakterielle Infektionen.....	82
4.3.2 Mykotische Infektionen	84
4.3.3 Virale Infektionen	84
4.4. Akute zelluläre Abstoßung.....	86
4.5 Infektionsbedingte Risikofaktoren für das Auftreten einer ACR.....	88
4.5.1 Bakterielle Infektionen.....	89
4.5.2 Mykotische Infektionen	90
4.5.3 Virale Infektionen	90
4.6 Zell- und Zytokinmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR	92
4.6.1 Warum werden Alternativen zur Abstoßungsdiagnostik benötigt?	92
4.6.2 Zellmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR	93
4.6.3 Zytokinmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR.....	101
4.6.3.1 Interleukin-1 β	102
4.6.3.2 Interleukin-8.....	103
4.6.3.3 Interleukin-10.....	104
4.6.3.4 Interleukin-17.....	105
4.6.3.5 MIP-1 α	107
4.6.4 Problematik bei der Bewertung von BAL-Proben lungentransplanterter Patienten	107
4.6.4.1 Spezielle Problematik bei der Bewertung von Zytokinen in BAL-Proben lungentransplanterter Patienten	109
4.6.5 Zusammenfassung der BAL-Ergebnisse.....	110

5. Zusammenfassung	111
6. Summary	113
7. Literaturverzeichnis.....	115
8. Lebenslauf.....	143
9. Danksagung	144
10. Eidesstattliche Erklärung	145

Abkürzungsverzeichnis

AAT	Alpha-1-Antitrypsin
ACR	<i>acute cellular rejection</i> (akute zelluläre Abstoßung)
AMR	<i>antibody-mediated rejection</i> (Antikörper-vermittelte Abstoßung)
APC	<i>antigen presenting cells</i> (antigenpräsentierende Zellen)
ARAD	<i>azithromycin responsive allograft dysfunction</i> (Azithromycin-responsive Allograftdysfunktion)
ARDS	<i>acute respiratory distress syndrome</i> (akutes Atemnotsyndrom)
AST	<i>American Society of Transplantation</i>
ATG	Antithymozytenglobulin
ATS	<i>American Thoracic Society</i>
AZA	Azathioprin
ALG	Antilymphozytenglobulin
BAL	bronchoalveoläre Lavage
BMI	<i>body-mass-index</i>
BO	Bronchiolitis obliterans
BODE-Index	<i>body-mass-index, airflow obstruction, dyspnea and exercise capacity index in chronic obstructive pulmonary disease</i>
BOS	Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom
CARV	<i>community-acquired respiratory virus</i> (ambulant erworbene Viren)
CB	<i>clinically indicated bronchoscopy</i> (klinisch-indizierte Bronchoskopie)
CCL4L-Gen	<i>chemokine (C-C Motif) ligand 4 like-gen</i>
CCL3	<i>chemokine (C-C Motif) ligand 3</i>
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CF	<i>cystic fibrosis</i> (zystische Fibrose)
CLAD	<i>chronic lung allograft dysfunction</i> (chronische Transplantatdysfunktion)
CMV	Cytomegalievirus

CNI	Calcineurininhibitor
COP	<i>cryptogenic organizing pneumonia</i> (kryptogen organisierende Pneumonie)
COPD	<i>chronic obstructive pulmonary disease</i> (chronisch obstruktive Lungenerkrankung)
CsA	Ciclosporin A
CSF	<i>colony stimulating factor</i> (koloniestimulierender Faktor)
CT	Computertomographie
D	Donor
DAMPs	<i>damage-associated molecular patterns</i>
DSA	<i>donor-specific antibody</i> (donorspezifische anti-HLA-Antikörper)
DLTX	<i>double lung transplantation</i> (Doppellungentransplantation)
DTH	<i>delayed-type hypersensitivity</i> (Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ)
EBV	Epstein-Barr-Virus
ECCPS	<i>Excellence Cluster Cardio-Pulmonary System</i>
ECMO	<i>extracorporeal membrane oxygenation</i> (extrakorporale Membranoxygenierung)
ECP	<i>eosinophilic cationic protein</i> (eosinophiles kationisches Protein)
ECP	<i>extracorporeal photopheresis</i> (extrakorporale Photopherese)
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
ERS	<i>European Respiratory Society</i>
ESR	<i>electron spin resonance</i> (Elektronenspinresonanz)
FACS	<i>fluorescence-activated cell sorting</i>
FEF _{25-75%}	<i>mean forced expiratory flow between 25-75 % of FVC</i> (mittlere maximale expiratorische Atemstromstärke zwischen 25 und 75 % der FVC)
FEV ₁	<i>forced expiratory volume in one second</i> (Einsekundenkapazität)
FiO ₂	<i>fraction of inspired oxygen</i> (inspiratorische Sauerstofffraktion)
FVC	<i>forced vital capacity</i> (forcierte Vitalkapazität)

G-CSF	<i>granulocyte-colony stimulating factor</i>
HE	Hämatoxylin-Eosin
HLA	<i>human leucocyt antigen</i> (humane Leukozytenantigene)
HMGB1	<i>high-mobility group box 1</i>
hMPV	humanes Metapneumovirus
HSV	Herpes-Simplex-Virus
HLTX	Herzlungentransplantation
IIP	<i>idiopathic interstitial pneumonia</i> (idiopathische interstitielle Pneumonie)
IL	Interleukin
ILD	<i>interstitial lung disease</i> (interstitielle Lungenerkrankung)
IMC	<i>Intermediate Care</i>
INF	Interferon
IPF	<i>idiopathic pulmonary fibrosis</i> (idiopathische pulmonale Fibrose)
IRI	<i>ischemia-reperfusion injury</i> (Ischämie-Reperfusionsschaden)
ISHLT	<i>International Society for Heart and Lung Transplantation</i>
LAM	Lymphangioliomyomatose
LAS	<i>lung allocation score</i> (Lungenallokations-Score)
LB	lymphozytäre Bronchiolitis
LTX	Lungentransplantation
MHC	<i>major histocompatibility complex</i> (Haupthistokompatibilitätskomplex)
MIP	<i>macrophage inflammatory protein</i>
MMF	Mykophenolat-Mofetil
mTOR	<i>mechanistic target of rapamycin</i>
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NO	Stickstoffmonoxid
NRAD	<i>neutrophilic reversible allograft dysfunction</i> (neutrophile reversible Allograftdysfunktion)
OD	<i>optical density</i> (optische Dichte)

OPTN/SRTR	<i>Organ Procurement and Transplantation Network/ Scientific Registry of Transplant Recipients</i>
PAH	<i>pulmonary arterial hypertension</i> (pulmonal-arterielle Hypertonie)
PaO ₂	<i>partial pressure of arterial oxygen</i> (Sauerstoffpartialdruck)
PCR	<i>polymerase chain reaction</i> (Polymerase-Kettenreaktion)
PEF	<i>peak expiratory flow</i> (expiratorischer Spitzenfluss)
PGD	<i>primary graft dysfunction</i> (primäres Transplantatversagen)
PTLD	<i>post-transplant lymphoproliferative disorder</i> (Posttransplantations-Lymphoproliferative Erkrankung)
R	<i>recipient</i> (Empfänger)
RAS	<i>restrictive allograft syndrome</i> (restriktives Allograftsyndrom)
ROS	<i>reactive oxygen species</i> (reaktive Sauerstoffspezies)
rpm	<i>revolutions per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
SB	<i>surveillance bronchoscopy</i> (Surveillancebronchoskopie, Routinebronchoskopie)
SLTX	<i>single lung transplantation</i> (Einzellungentransplantation)
spp.	Spezies
TAC	Tacrolimus
TBB	transbronchiale Biopsie
TGF	<i>transforming growth factor</i>
TLR	<i>toll-like receptor</i>
TNF	Tumornekrosefaktor
Tx	Transplantation
UKGM	Universitätsklinikum Gießen und Marburg
VC	<i>vital capacity</i> (Vitalkapazität)
VZV	Varizella-Zoster-Virus

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzahl erwachsener Lungentransplantiertes nach Jahr und Transplantationsverfahren	2
Abbildung 2: Kaplan-Meier-Überleben lungentransplantiertes Erwachsener nach Lungentransplantationsindikation	3
Abbildung 3: Anzahl der Transplantiertes pro Transplantationsjahr	40
Abbildung 4: Übersicht über das Studiendesign	41
Abbildung 5: Transplantationsverfahren bezogen auf alle transplantiertes Studienteilnehmer	42
Abbildung 6: Durchschnittliches Alter bei Transplantation in Prozent aller Transplantiertes	44
Abbildung 7: Transplantationsindikation bezogen auf das Alter bei Transplantation in Prozent aller Transplantiertes	45
Abbildung 8: Bakteriennachweis bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien / Anteil von bakterieller Kolonisation, Tracheobronchitis und Pneumonie bei positivem Bakteriennachweis	47
Abbildung 9: Anteil grampositiver bzw. -negativer Bakterien in Bezug auf die Gesamtzahl aller isolierten Bakterien bei einer Kolonisation und Infektion der Atemwege	48
Abbildung 10: Pilznachweis bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien / Anteil von mykotischer Kolonisation, Tracheobronchitis und Pneumonie bei positivem Pilznachweis	49
Abbildung 11: Anteil verschiedener Pilzspezies in Bezug auf die Gesamtzahl aller isolierten Pilze bei einer Kolonisation und Infektion der Atemwege	50
Abbildung 12: Virusnachweis bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien	51
Abbildung 13: Akute zelluläre Abstoßung nach ISHLT bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien mit transbronchialer Biopsie	52
Abbildung 14: Therapierelevante akute zelluläre Abstoßung bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien mit transbronchialer Biopsie	53
Abbildung 15: Therapierelevante akute zelluläre Abstoßung versus nicht-therapierelevante akute zelluläre Abstoßung bezogen auf die Gesamtzahl aller durchgeführten Untersuchungen mit TBB in Abhängigkeit von der Zeit nach Transplantation / Häufigkeit einer therapierelevanten akuten zellulären Abstoßung in Prozent aller durchgeführten Untersuchungen mit TBB in Abhängigkeit von der Zeit nach Transplantation	54
Abbildung 16: BOS-Stadium der Transplantiertes zum Zeitpunkt des Studienabschlusses	55
Abbildung 17: Entwicklung eines BOS (Stadium 0-p, 1, 2, 3) in Abhängigkeit von der Zeit nach Transplantation	56
Abbildung 18: Überlebensrate der Studienpatienten	56

Abbildung 19: Häufigkeit einer bakteriellen Pneumonie bei einer therapierelevanten akuten zellulären Abstoßung versus nicht-therapierelevanten akuten zellulären Abstoßung bezogen auf die Anzahl der Untersuchungen.....	58
Abbildung 20: Häufigkeit einer therapierelevanten ACR bei Vorliegen einer bakteriellen Pneumonie versus keine bakterielle Pneumonie.....	58
Abbildung 21: Häufigkeit eines CARV-Nachweises bei einer therapierelevanten akuten zellulären Abstoßung versus nicht-therapierelevanten akuten zellulären Abstoßung bezogen auf die Anzahl der Untersuchungen	60
Abbildung 22: Häufigkeit einer therapierelevanten ACR bei Vorliegen eines positiven CARV-Nachweises versus negativen CARV-Nachweises zum Untersuchungszeitpunkt / Häufigkeit einer therapierelevanten ACR bei Vorliegen eines positiven CARV-Nachweises versus negativen CARV-Nachweises zu einem späteren Zeitpunkt	60
Abbildung 23: CARV-Nachweis gemäß des Schweregrades einer B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT.....	61
Abbildung 24: Prozentualer Anteil von Makrophagen an der Gesamtzellzahl der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades einer A- und B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT und bezogen auf die Einteilung A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$	64
Abbildung 25: Prozentualer Anteil von Neutrophilen an der Gesamtzellzahl der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades einer A- und B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT und bezogen auf die Einteilung A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$	65
Abbildung 26: Prozentualer Anteil von Eosinophilen an der Gesamtzellzahl der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades einer A- und B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT und bezogen auf die Einteilung A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$	66
Abbildung 27: Prozentualer Anteil von Lymphozyten an der Gesamtzellzahl der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades einer A- und B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT und bezogen auf die Einteilung A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$	67
Abbildung 28: Konzentration von IL-1 β in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR und A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$	70
Abbildung 29: Konzentration von IL-8 in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR und A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$	72
Abbildung 30: Konzentration von IL-8 in der bronchoalveolären Lavage bei Vorliegen einer Infektion	73
Abbildung 31: Konzentration von IL-10 in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR und A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$	74
Abbildung 32: Konzentration von IL-10 in der bronchoalveolären Lavage bei Vorliegen eines Bronchiolitis-Obliterans-Syndroms	74

Abbildung 33: Konzentration von IL-17 in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR und A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$	75
Abbildung 34: Konzentration von MIP-1 α in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR und A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$	76

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zytokine und deren Hauptwirkung	21
Tabelle 2: Definition einer bakteriellen Pneumonie.....	33
Tabelle 3: Definition einer bakteriellen Tracheobronchitis	33
Tabelle 4: Definition einer Pilzpneumonie	34
Tabelle 5: Definition einer Tracheobronchitis durch Pilze	35
Tabelle 6: Schweregradeinteilung des Bronchiolitis-Obliterans-Syndroms	38
Tabelle 7: Transplantationsindikation bezogen auf das Geschlecht	43
Tabelle 8: CMV-Status von Spender (D) und Empfänger (R)	46
Tabelle 9: Zellzahl und –muster der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades der akuten Abstoßung Grad A nach ISHLT 2006	68
Tabelle 10: Zellzahl und –muster der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades der akuten Abstoßung Grad B nach ISHLT 1996	68-69
Tabelle 11: Zellzahl und –muster der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades der akuten Abstoßung Grad BR nach ISHLT 2006.....	69
Tabelle 12: Konzentration von IL-8 in der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades der akuten Abstoßung Grad B nach ISHLT 1996	72

1. Einleitung

1.1 Lungentransplantation

1.1.1 Geschichte der Lungentransplantation

Die Lungentransplantation (LTX) ist die einzige und letzte Therapieoption im Endstadium fortgeschrittener Lungenerkrankungen. Der Beginn der experimentellen Lungentransplantationsforschung geht auf das Jahr 1947 zurück, in welchem der Russe V.P. Demikhov die ersten Lungentransplantationen an Hunden durchführte (1). Diese Versuche wurden in den darauffolgenden Jahren durch andere Wissenschaftler reproduziert und, insbesondere durch die Verbesserung von Operationstechniken und der Einführung von Immunsuppressiva, weiterentwickelt (2, 3). Die erste erfolgreiche Lungentransplantation am Menschen führte J.D. Hardy am 11. Juni 1963 im *Medical Center* an der *University of Mississippi* durch (4). Der an einem Bronchialkarzinom und Lungenemphysem leidende Patient verstarb 18 Tage später an Nierenversagen und allgemeiner Schwäche (4). Am 14. November 1968 gelang dem Belgier F. Derom die Implantation einer Einzellunge bei einem 23-jährigen, an Silikose leidenden Mann. Er überlebte zehn Monate (5). In diesem frühen Zeitalter der Lungentransplantationsforschung verstarben die meisten Patienten innerhalb weniger Tage bis Wochen (2, 6), meist aufgrund inadäquater Immunsuppression oder Anastomoseninsuffizienz, verursacht durch hohe Kortikosteroiddosen (6, 7). Durch die Einführung von Ciclosporin im Jahr 1981 konnte der Steroidgebrauch reduziert und eine signifikante Verbesserung der Anastomosenheilung erzielt werden (8, 9). Infolge dieser Entwicklung gelang es dem Chirurgen J. Cooper am 07. November 1983 die erste dauerhaft erfolgreiche Einzellungentransplantation an einem 58-jährigen Mann mit Lungenfibrose am *Toronto General Hospital* durchzuführen. Der Patient verstarb 6,5 Jahre später an Nierenversagen (9). Am 26. November 1986 wurde die erste en-bloc Doppellungentransplantation gleichermaßen von der *Toronto Lung Transplant Group* durchgeführt (10). Die Patientin überlebte fast 15 Jahre (11). 1989 entwickelte die *Washington University Group*, ebenfalls um Cooper, die Operationstechnik der sequentiellen Doppellungentransplantation (12). Die sequentielle Lungentransplantation ist noch heute das Standardverfahren, wenn die Durchführung einer Doppellungentransplantation geplant ist (13).

1.1.2 Häufigkeit der Lungentransplantation

Die Zahl der Gesamt- und insbesondere der bilateralen Lungentransplantationen hat seit den achtziger Jahren kontinuierlich zugenommen, wobei in den letzten drei Jahren eine Stabilisierung zu verzeichnen ist (14). Insgesamt wurden bis 30. Juni 2016 weltweit 60.107 Lungentransplantationen beim Erwachsenen durchgeführt, im Jahr 2015 waren es 4122 (Abbildung 1) (14). In Deutschland liegt die Zahl der Lungentransplantationen in den letzten Jahren konstant bei etwa 300 pro Jahr, 2016 waren es 319 (15).

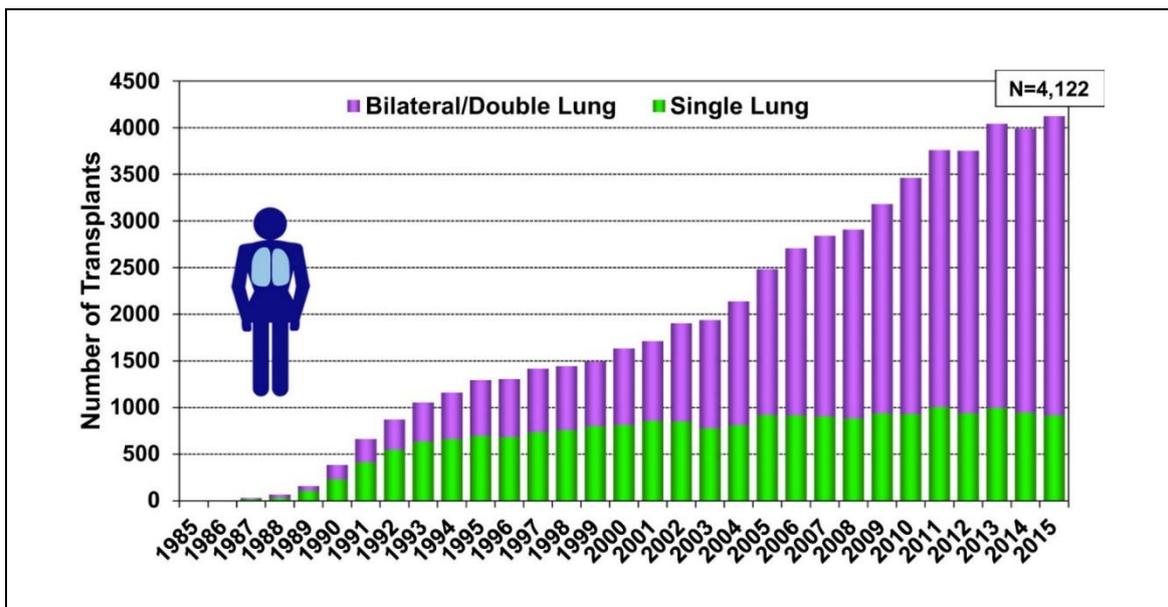


Abbildung 1: Anzahl erwachsener Lungentransplantierte nach Jahr und Transplantationsverfahren (Transplantationszeitraum 1985 bis 2015 (gemeldete Transplantationen an das ISHLT-Register)) (mit freundlicher Genehmigung der ISHLT (14)). Abkürzungen: ISHLT: International Society for Heart and Lung Transplantation, n: Anzahl der Patienten

Die häufigste Indikation zur Lungentransplantation über die letzten zwei Dekaden war die chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD) mit insgesamt 36%, davon 5% mit und 31% ohne Alpha-1-Antitrypsin (AAT)-Mangel, gefolgt von der Gruppe interstitieller Lungenerkrankungen (ILD) mit knapp 30%. Dritthäufigste Indikation mit fast 20% waren Lungenerkrankungen mit Bronchiektasen (hierunter vor allem die zystische Fibrose (CF)). Seltenerer Krankheitsursachen waren pulmonal-arterielle Hypertonie (PAH) (4,4%), Sarkoidose und Lymphangiomeiomyomatose (LAM). Retransplantationen repräsentierten etwa 4% aller Transplantationen (14). Über die letzten Jahre nahm der Prozentsatz an Transplantatempfängern mit COPD kontinuierlich ab, wohingegen der Prozentsatz an Empfängern mit ILD weltweit von 16% auf über 30% zugenommen hat (16).

1.1.3 Überleben nach Lungentransplantation

Nach Angaben der *International Society of Heart and Lung Transplantation* (ISHLT) lag das mediane Überleben von Erwachsenen, die sich in den Jahren 1990 bis 2015 einer Lungentransplantation unterzogen haben, bei sechs Jahren (14). Die Überlebensraten werden aktuell mit etwa 90 % nach drei Monaten, 80 % nach einem Jahr, 54 % nach fünf Jahren und nur noch 32 % nach zehn Jahren angegeben (16). Das Überleben ist abhängig von der Indikation zur Transplantation, wobei Patienten mit zystischer Fibrose die längsten Überlebensraten aufzeigen (Abbildung 2) (16). Indikationsunabhängig zeigt sich zudem ein klarer Überlebensvorteil von bilateralen gegenüber unilateralen Transplantatempfängern (14).

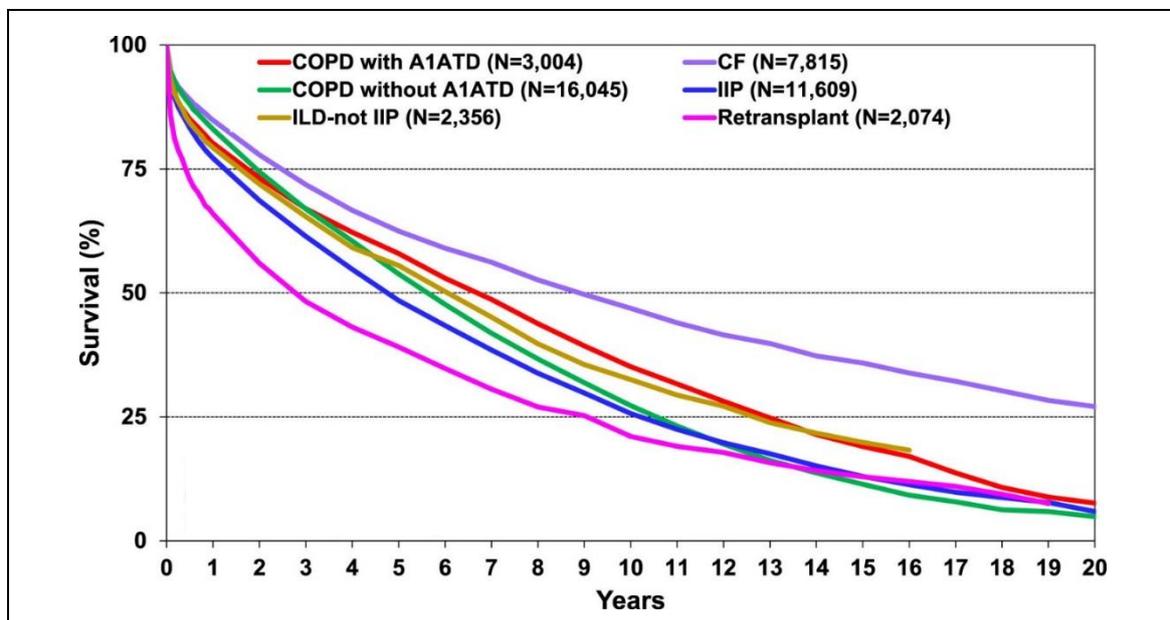


Abbildung 2: Kaplan-Meier-Überleben lungentransplantierte Erwachsener nach Lungentransplantationsindikation (Transplantationszeitraum Januar 1990 bis Juni 2014). Medianes Überleben: CF 8,9 Jahre, COPD mit Alpha-1-Antitrypsin-Mangel 6,7 Jahre, COPD ohne Alpha-1-Antitrypsin-Mangel 5,6 Jahre, ILD-nicht IIP 6,1 Jahre, IIP 4,8 Jahre und Retransplantation 2,8 Jahre (adaptiert und mit freundlicher Genehmigung der ISHLT (16)). Abkürzungen: COPD: chronisch obstruktive Lungenerkrankung, A1ATD: Alpha-1-Antitrypsin-Mangel, ILD: interstitielle Lungenerkrankung, IIP: idiopathische interstitielle Pneumonie, CF: zystische Fibrose, n: Anzahl der Patienten

Zwar hat sich die Überlebensrate nach Lungentransplantation im Laufe der Jahre kontinuierlich verbessert, das Langzeitüberleben ist jedoch, verglichen mit anderen Organtransplantationen, weiterhin limitiert (17). Beispielsweise liegt das mediane Überleben herztransplantierte Erwachsener bei fast elf Jahren (18). Diese Ungleichheit wird vor allem der Entwicklung einer chronischen Transplantatabstoßung lungentransplantierte Patienten zugeschrieben, welche für 30 % der Mortalität zwischen drei und fünf Jahren nach Transplantation verantwortlich ist (14) und innerhalb von fünf Jahren knapp 50 % der Patienten betrifft (16).

Gemäß des aktuellen Registers der ISHLT sind die beiden häufigsten Todesursachen der frühen Post-Transplantationsperiode Infektionen und Transplantatversagen, wobei innerhalb der ersten 30 Tage zusätzlich perioperative und kardiovaskuläre Komplikationen sowie Multiorganversagen eine Rolle spielen. Jenseits des ersten Jahres nach Transplantation ist die chronische Transplantatabstoßung führende Mortalitätsursache, gefolgt von Infektionen, Transplantatversagen und Malignomen (14).

1.1.4 Indikation, Kontraindikation und Allokation

Die Indikation zur Lungentransplantation besteht bei Patienten mit terminaler Lungenerkrankung, bei denen sämtliche alternative Therapiemaßnahmen ausgeschöpft sind, die eine begrenzte Lebenserwartung ohne Transplantation aufweisen und für die nach Abwägung von Nutzen und Risiko ein Überlebensvorteil nach Transplantation gegenüber einer konservativen Therapie besteht. Die sorgfältige Auswahl von geeigneten Kandidaten für eine Lungentransplantation ist ein wesentlicher Faktor für die Lebensqualität und Überlebensrate nach Transplantation (19, 20). Darüber hinaus obliegt jedem Transplantationszentrum aufgrund der weltweiten Organknappheit eine hohe ethische Verantwortung. In Deutschland erfolgt die Registrierung potentieller Organempfänger und die Allokation über die Stiftung Eurotransplant. Ende 2016 befanden sich 380 Patienten auf der aktiven Warteliste für ein Lungentransplantationsangebot (21). Im selben Jahr wurden 319 Patienten transplantiert und 415 neu registriert (22). 62 Patienten verstarben auf der Warteliste (23).

Angesichts der Komplexität der Indikationsstellung zur LTX wurden von der ISHLT Empfehlungen verfasst, die als Orientierungshilfe für eine probate Selektion von potentiellen Lungentransplantationskandidaten dienen sollen. Neben generellen Grundsätzen (hohes Risiko innerhalb der nächsten zwei Jahre ohne Transplantation zu versterben und gleichzeitig hohe Wahrscheinlichkeit, die ersten fünf Jahre nach Transplantation zu überleben) existieren krankheitsspezifische Kriterien zur Patientenselektion (24). Für Patienten mit COPD beispielsweise dienen ein BODE-Index ≥ 7 , eine $FEV_1 < 20\%$ vom Soll, rezidivierende Exazerbationen mit begleitender Hyperkapnie und die Entwicklung einer pulmonalen Hypertonie als Entscheidungskriterien zur Wahl des richtigen Listungszeitpunktes (24–26).

Absolute Kontraindikationen für eine Lungentransplantation sind unter anderem Tumorerkrankungen innerhalb der letzten zwei Jahre vor Transplantation, nicht behandelbare Dysfunktion lebenswichtiger Organe, nicht-therapierbare chronische

Infektionskrankheiten, schwere Thorax- oder Wirbelsäulendeformitäten, BMI ≥ 35 kg/m², fortgeführter Substanzabusus, schwerwiegende psychiatrische Erkrankungen, Incompliance oder fehlende psycho-soziale Unterstützung. Als relative Kontraindikationen werden Alter über 65 Jahre, ausgeprägte Osteoporose, BMI 30-34,9 kg/m², Kolonisation mit hochresistenten Keimen (z.B. *Burkholderia cepacia complex* bei Patienten mit zystischer Fibrose (27, 28)) und ein niedriger funktioneller Status angesehen (24–26).

In Deutschland erfolgt die Allokation von Spenderorganen seit 11. Dezember 2011 unter Verwendung des Lungenallokation-Scores (*lung allocation score*, LAS) (29). Das 2005 erstmals in den Vereinigten Staaten eingeführte (30) und für Deutschland adaptierte System beruht auf dem Prinzip der Dringlichkeit und Erfolgsaussicht (hinsichtlich Überleben) der Organverteilung und hat damit das vorrangig auf Wartezeit (mit der Möglichkeit der zusätzlichen Einstufung „urgent“ und „high urgent“) ausgerichtete Allokationssystem abgelöst. Mehrere Studien konnten bereits zeigen, dass seit Einführung des LAS die Wartelisten-Sterblichkeit in den USA (31) und Deutschland (32, 33) deutlich gesunken ist. Darüber hinaus hat der Anteil Transplantiertes mit restriktiver Lungenerkrankung gegenüber Patienten mit obstruktiver Lungenerkrankung zugenommen (31–34), die mediane Wartezeit auf ein Spenderorgan hat sich signifikant verkürzt (33) und die 1-Jahres-Überlebensrate nach Transplantation hat sich, trotz steigendem Empfängeralter und steigendem Anteil an kritisch Kranken mit Beatmung oder extrakorporalem Unterstützungsverfahren, verbessert (31, 33, 34).

Die Allokation von Spenderlungen erfolgt primär nach Blutgruppe und Körpergröße über die zentrale Vermittlungsstelle Eurotransplant. Bei mehreren potentiellen Empfängern wird nach dem höchsten LAS alloziert (29).

Der LAS ist ein Punktwertsystem, welches aus 19 unterschiedlich gewichteten Variablen (u. a. funktioneller Status, Sauerstoffbehandlung, forcierte Vitalkapazität und Sechs-Minuten-Gehtest) berechnet wird und Kandidaten auf der Warteliste anhand von Dringlichkeit und Überlebenswahrscheinlichkeit nach Transplantation Prioritäten zuordnet (29). Der Wert kann zwischen 0 und 100 liegen, wobei ein LAS über 50 als hoch eingestuft wird.

2014 wurde der Lungenallokation-Score auch in den Niederlanden eingeführt (35).

1.1.5 Transplantationsimmunologie

Grundsätzlich wird das angeborene, unspezifische Immunsystem, bestehend aus Makrophagen, Mastzellen, dendritischen Zellen, Granulozyten, natürlichen Killerzellen, Zytokinen und Komplementsystem, vom adaptiven Immunsystem unterschieden. Die adaptive Immunität wird durch B- und T-Lymphozyten repräsentiert, die spezifische Antigene erkennen und dadurch eine humorale bzw. zellvermittelte Immunantwort auslösen. Hauptangriffsziel der Immunantwort bei der Transplantation von allogenen Organen sind die Haupthistokompatibilitätsantigene, die durch T-Lymphozyten des Empfängers erkannt werden und letztlich über die Auslösung einer Signalkaskade zur Transplantatabstoßung führen (36).

1.1.5.1 Haupthistokompatibilitätskomplex

Der Haupthistokompatibilitätskomplex (*major histocompatibility complex*, MHC) ist ein Genabschnitt auf Chromosom 6, welcher die antigenpräsentierenden MHC-Moleküle der Klasse I und II codiert, die für die Gewebekompatibilität bei Transplantationen verantwortlich sind. Beim Menschen werden die MHC-Moleküle auch als humane Leukozytenantigene (*human leucocyt antigen*, HLA) bezeichnet. Aufgrund der Polygenie und des Polymorphismus der MHC-Gene trägt jeder Mensch ein individuelles HLA-Muster. Dieses Muster ist für die Akzeptanz bzw. Abstoßung eines fremden Organs von entscheidender Bedeutung.

MHC-I-Moleküle befinden sich auf allen kernhaltigen Zellen und Thrombozyten. Sie präsentieren intrazellulär entstandene Proteine auf ihrer Oberfläche. MHC-II-Moleküle befinden sich auf professionellen antigenpräsentierenden Zellen (*antigen presenting cells*, APC), aktivierten T-Lymphozyten, Endothel- und Epithelzellen und präsentieren extrazelluläre, durch Phagozytose aufgenommene Proteine (37).

1.1.5.2 T-Lymphozyten

Die T-Zell-Aktivierung erfolgt zum einen durch Kontakt des T-Zell-Rezeptors mit antigenbeladenen MHC-Molekülen auf antigenpräsentierenden Zellen und zum anderen durch ein weiteres, zusätzlich stimulierendes Signal im Sinne einer Rezeptor-Ligand-Interaktion zwischen T-Lymphozyt und APC-Zelle (38). MHC-Moleküle der Klasse I stimulieren T-Zellen mit dem Oberflächenrezeptor CD (*cluster of differentiation*) 8, welche sich anschließend in zytotoxische T-Zellen differenzieren und über eine

Signalkaskade direkt den programmierten Zelltod der Zielzelle auslösen können. MHC-Moleküle der Klasse II stimulieren T-Zellen mit dem Oberflächenrezeptor CD4, welche sich wiederum in T-Helferzellen differenzieren (39). Die T-Helferzellen werden anhand ihres produzierten Zytokinmusters in weitere Subpopulationen unterteilt. T_h1-Zellen (u. a. Interferon (INF)- γ , Interleukin (IL)-2) induzieren hauptsächlich die Aktivierung von Makrophagen und nehmen eine zentrale Rolle bei der akuten Transplantatabstoßung ein. T_h2-Zellen (u. a. IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13) aktivieren naive B-Zellen und sind bei der Allergie vom Soforttyp beteiligt. T_h17-Zellen (u. a. IL-17) spielen eine Rolle bei der Immunantwort gegen extrazelluläre Pathogene und scheinen sowohl bei der akuten als auch bei der chronischen Transplantatabstoßung von Bedeutung zu sein (40–43).

Eine weitere Subpopulation von T-Lymphozyten sind die regulatorischen T-Zellen (u. a. CD4⁺-Foxp3⁺-Treg-Zellen). Sie sezernieren die immunsuppressiven Zytokine IL-10 und *transforming growth factor* (TGF)- β und supprimieren die Aktivierung und Proliferation von anderen Immunzellen wie APC-Zellen, CD4⁺- und CD8⁺-T-Lymphozyten (44). Sie nehmen daher eine Schlüsselrolle in der Aufrechterhaltung der Immuntoleranz gegenüber dem Spenderorgan ein (45). Beispielsweise konnte in einem Mausmodell gezeigt werden, dass es durch Hemmung der T_h17-Antwort durch regulatorische T-Zellen zu einer verminderten IL-17-Expression und damit zu einer Abschwächung der akuten Transplantatabstoßung kommt (46).

1.1.5.3 Transplantatabstoßung

Der Transplantationsprozess (Organ-Explantation, -Konservierung, -Implantation und -Reperfusion) führt zu einer inflammatorischen Schädigung des Spenderorgans, die als Ischämie-Reperfusionsschaden (*ischemia-reperfusion injury*, IRI) bezeichnet wird und zu einem primären Transplantatversagen (*primary graft dysfunction*, PGD) führen kann (47, 48). Das IRI induziert Veränderungen im Zellmetabolismus, welche über die Bildung reaktiver Sauerstoffspezies zur Schädigung der Zielzellen und Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren führt (49). Eines dieser Mediatoren ist das *high-mobility group box 1* (HMGB1), ein Protein, welches von nekrotisierenden Zellen sezerniert wird und zur Familie der *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) gehört (50). Unter dem Begriff DAMPs werden Biomoleküle subsummiert, welche eine nicht-infektiöse Inflammation initiieren bzw. aufrechterhalten können und über *toll-like receptors* (TLRs) das angeborene Immunsystem, insbesondere neutrophile Granulozyten, aktivieren (51, 52). Neutrophile Granulozyten sind nicht nur kennzeichnend für eine akute Transplantatschädigung im Sinne eines IRI (45, 53),

sondern stimulieren außerdem das adaptive Immunsystem, beispielsweise durch Rekrutierung von CD8⁺-T-Zellen (54) oder Expression von costimulierenden Signalen, welches die weitere Differenzierung von CD4⁺-T-Zellen bewirkt (45).

Das auslösende Ereignis, welches schlussendlich zu einer Transplantatabstoßung führt, ist die Erkennung von Alloantigenen durch T-Lymphozyten. Dies kann auf direktem und indirektem Weg erfolgen. Der direkte Weg ist gekennzeichnet durch die Erkennung von fremden, intakten MHC-Molekülen auf *Spender-APC*-Zellen durch Empfänger-T-Lymphozyten und spielt insbesondere in der Frühphase der Immunantwort eine dominante Rolle (36, 37). Werden Spender-MHC-Moleküle durch *Empfänger-APC*-Zellen aufgenommen, prozessiert und als Fragmente auf den eigenen MHC-Molekülen präsentiert, entspricht dies dem indirekten T-Zell-Aktivierungsweg (37). Da sich die Anzahl an Spender-APC-Zellen während der ersten Monate nach Transplantation verringert, nimmt auch der Beitrag der direkten T-Zell-Aktivierung an der Immunantwort im weiteren Verlauf ab (36).

Nach Erkennung des MHC-Antigen-Komplexes durch den T-Lymphozyten findet eine Calcineurin-vermittelte Stimulation der Sekretion von IL-2 im Lymphozyten statt. IL-2 ist ein essentieller Wachstumsfaktor der T-Zell-Proliferation. Daher sind sowohl Calcineurin als auch IL-2 Angriffspunkte moderner Immunsuppressiva (55).

CD8⁺-zytotoxische T-Zellen setzen nach Kontakt mit ihrer Zielzelle zytotoxische Granula frei, die über den induzierten Zelltod zur Organdestruktion führt, wohingegen CD4⁺-T_h1-Zellen über den Mechanismus der Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ (*delayed-type hypersensitivity*, DTH) ihre Effektorfunktion ausüben. Die DTH-Reaktion ist charakterisiert durch die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen, wie INF- γ und Tumornekrosefaktor (TNF)- α , welche die Infiltration von Leukozyten und Produktion von unspezifischen Mediatoren (z.B. reaktive Sauerstoffspezies) bewirken und darüber zu einer Organdestruktion führen (56). CD4⁺-T_h17-Zellen wiederum schädigen das Transplantat durch die Aktivierung des Komplementsystems (42, 45).

1.1.6 Immunsuppressive Therapie nach Lungentransplantation

Die Anwendung von Immunsuppressiva bei Patienten nach Lungentransplantation kann grundsätzlich in Induktionstherapie, Erhaltungstherapie und Therapie der akuten Abstoßungsreaktion eingeteilt werden. Ziel ist es, eine Transplantatabstoßung zu verhindern bzw. im letztgenannten Fall, sie zu behandeln.

1.1.6.1 Induktionstherapie

Als Induktionstherapie wird die temporäre Anwendung eines potenten Immunsuppressivums in der unmittelbaren postoperativen Periode zur Unterdrückung der Immunantwort der T-Lymphozyten auf das allogene Organ bezeichnet. Die Therapie ist Antikörper-basiert und kann in zwei Kategorien unterteilt werden. Zum einen Agenzien, die auf die Lymphozyten-Depletion abzielen (polyklonal: Antithymozytenglobulin (ATG)/Antilymphozytenglobulin (ALG); monoklonal: Alemtuzumab), zum anderen IL-2-Rezeptor-Antagonisten (monoklonal: Basiliximab) (57).

Grundgedanke hinter der Nutzung einer Induktionstherapie ist der mögliche Benefit auf das Langzeitüberleben durch eine Reduktion der Inzidenz an akuten Abstoßungsreaktionen in der unmittelbaren Posttransplantationsperiode (58). Diesbezüglich existiert jedoch keine eindeutige Datenlage, weswegen die Anwendung einer Induktionstherapie von Zentrum zu Zentrum uneinheitlich ist und in den letzten Jahren durchschnittlich nur etwa 60% aller Lungentransplantierten (mit ansteigender Tendenz) eine Therapie erhalten haben (14). Einige Studien konnten einen Überlebensvorteil zugunsten von IL-2-Rezeptor-Antagonisten bzw. ATG (59), Alemtuzumab bzw. Basiliximab (60) und Alemtuzumab (61) gegenüber keiner Induktionstherapie nachweisen. Dies deckt sich mit Daten aus dem aktuellen ISHLT-Register (62). Andere Studien konnten diese Unterschiede im Überleben nicht bestätigen (63–65).

Derzeit werden IL-2-Rezeptor-Antagonisten mit über 60% am häufigsten zur Induktionstherapie verwendet (14).

1.1.6.2 Erhaltungstherapie

Die immunsuppressive Erhaltungstherapie nach Lungentransplantation beinhaltet in aller Regel eine Dreifachkombination, zumeist bestehend aus einem Glukokortikoid, einem Calcineurininhibitor (CNI) (Ciclosporin A (CsA) oder Tacrolimus (TAC)) und einem Purinsynthesehemmer (Azathioprin (AZA) oder Mykophenolat-Mofetil (MMF)). Die weitaus am häufigsten genutzte Kombination über die letzten Jahre ist Prednisolon, Tacrolimus und MMF (14). TAC/MMF weisen die niedrigste Rate an akuten Abstoßungen innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation auf, die Kombination CsA/AZA die höchste (62).

Durch die Einführung von Ciclosporin Anfang der achtziger Jahre konnten große Fortschritte im Bereich der Lungentransplantation erzielt werden. Etwa zehn Jahre später erfolgte die Zulassung von Tacrolimus. Verschiedene Studien deuten auf eine niedrigere Inzidenz von akuter Abstoßung und Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom (BOS) unter der Verwendung von Tacrolimus gegenüber Ciclosporin hin (66–70), weshalb TAC mit über 90% (ein Jahr nach Transplantation, Daten aus 2016) der weltweit meistgenutzte Calcineurininhibitor ist (62). Die Studienlage zu MMF ist weniger eindeutig. Kleinere Fallserien konnten eine Überlegenheit von MMF gegenüber Azathioprin nachweisen (71–73), zwei größere randomisierte Studien konnten diese klare Überlegenheit jedoch nicht bestätigen (74, 75). Ungeachtet dessen liegen für andere Organtransplantationen überzeugende Daten vor, die für eine größere Effektivität von MMF gegenüber Azathioprin hinsichtlich der Verringerung der Rate an akuten Abstoßungsreaktionen sprechen (76, 77), weswegen MMF bei Lungentransplantationen mit knapp 80% als Purinsynthesehemmer der Wahl verwendet wird (62).

Eine weitere immunsuppressive Substanzklasse sind die *mechanistic target of rapamycin* (mTOR)-Inhibitoren mit den Vertretern Sirolimus und Everolimus. Sirolimus ist ein Makrolid-ähnliches Antibiotikum mit immunsuppressiver, antitumoröser und antimykotischer Wirkung (78). Everolimus ist ein Derivat von Sirolimus. Beide Substanzen wirken über eine Komplexbildung mit dem Protein mTOR und hemmen darüber die T-Zell-Proliferation (79). Gleichzeitig haben sie einen inhibitorischen Effekt auf Fibroblasten, wodurch es häufig zu Wundheilungsstörungen kommt; so sind einige tödlich verlaufende Fälle von Anastomosendehiszenzen bei der Anwendung von Sirolimus in den ersten drei Monaten nach Transplantation beschrieben (80, 81). mTOR-Inhibitoren werden derzeit hauptsächlich bei Auftreten von chronischer Transplantatabstoßung, CNI-induzierter Nierenschädigung oder Unverträglichkeit von Purinsynthesehemmern angewandt (82–86). Abgesehen von den genannten Indikationen gibt es gegenwärtig keine klare Empfehlung für den Einsatz von mTOR-Inhibitoren (83).

1.1.7 Komplikationen nach Lungentransplantation

1.1.7.1 Atemwegskomplikationen

Seit Beginn der Lungentransplantationsforschung sind Inzidenz und Mortalität von Atemwegskomplikationen durch Optimierung der Patientenselektion, der Organpräservierung, der chirurgischen Techniken und der Wahl an Immunsuppressiva

deutlich gesunken und größtenteils für die Verbesserung der Kurzzeitüberlebensraten nach Lungentransplantation verantwortlich (87, 88). Derzeit wird die Inzidenz mit 2-30 % angegeben, die Mortalität liegt zwischen 2-4 % (88–90). Ursächlich für die Diskrepanz der Inzidenzangaben ist das Fehlen standardisierter Klassifikationssysteme (90).

Zu den Atemwegskomplikationen werden beispielsweise Atemwegsstenosen, -infektionen, -fisteln oder -nekrosen sowie Anastomosendehiszenzen oder die Bildung von Granulationsgewebe gezählt (87, 90, 91). Wesentliche Ursache für die Entwicklung der genannten Komplikationen ist eine Ischämie des Spenderbronchus in der unmittelbaren Posttransplantationsperiode aufgrund fehlender Blutversorgung durch die *Arteriae bronchiales*, die während der Operation durchtrennt und nicht reanastomosiert werden (92). Die Revaskularisation des Spenderorgans kann mehrere Wochen in Anspruch nehmen (87, 90, 91). Zur Behandlung der Atemwegskomplikationen stehen mehrere interventionelle Techniken zur Verfügung, wie zum Beispiel Laserkoagulation, Kryotherapie, Ballondilatation oder Implantation eines Atemwegsstents (87, 90, 91).

1.1.7.2 Primäre Transplantatdysfunktion

Die PGD ist eine akute Lungenschädigung multifaktorieller Genese, die innerhalb der ersten 72 Stunden nach Transplantation auftritt und durch radiologisch nachweisbare diffuse pulmonale Infiltrate und Hypoxämie gekennzeichnet ist (93, 94). Die Schweregradeinteilung erfolgt anhand des $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ -Verhältnisses (Grad 0 bis 3), wobei behandelbare Ursachen (z.B. kardiales Lungenödem oder Pneumonie) ausgeschlossen sein müssen (93, 94). Diese einheitliche Definition der PGD wurde erstmals 2005 durch die *ISHLT Working Group* vorgeschlagen und 2016 von gleicher überarbeitet (93, 94).

Die Inzidenz der primären Transplantatdysfunktion wird nach aktuellen Literaturangaben auf etwa 30 % geschätzt (95). Mehrere Studien konnten zeigen, dass die PGD 3 mit einer signifikant höheren 30- (96) bzw. 90- (97, 98) Tagesmortalität im Vergleich zu niedrigeren Schweregraden assoziiert ist. In einer großen Multi-Center-Kohortenstudie mit 1255 Lungentransplantierten lag die 90-Tagesmortalität bei Patienten mit PGD 3 bei 23 % verglichen mit 5 % bei Patienten ohne PGD (99). Auch die Langzeitsterblichkeit ist signifikant erhöht (96, 98–100). Zudem besteht bei Patienten mit PGD ein erhebliches Risiko für die Entwicklung eines BOS (100–102).

Die primäre Transplantatdysfunktion entsteht als Folge verschiedener, auf das Spenderorgan einwirkender Schädigungen, wie beispielsweise Hirntod des Spenders,

mechanische Ventilation, Organbeschaffung und -aufbewahrung sowie IRI (48). Neben den genannten Ursachen wurden multiple Donor-, Spender- und operative Risikofaktoren für die Entwicklung einer PGD identifiziert (95). Die Therapie der primären Transplantatdysfunktion ähnelt den Therapieprinzipien des *acute respiratory distress syndrome* (ARDS) und hat vor allem supportiven Charakter. Laut Konsensus der *ISHLT Working Group* wird eine lungenprotektive Beatmung, Flüssigkeitsrestriktion, die Inhalation von Stickstoffmonoxid (NO) oder Prostaglandinen sowie bei persistierender, schwergradiger Hypoxämie die Anwendung einer extrakorporalen Membranoxygenierung (*extracorporeal membrane oxygenation*, ECMO) empfohlen (103).

1.1.7.3 Infektionen

Infektionen sind mit etwa 37 % führende Todesursache innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation (14). Neben der Immunsuppression spielen weitere Faktoren wie gestörte mukoziliäre Clearance, eingeschränkter Hustenreflex, beeinträchtigte Wundheilung durch Unterbrechung des Lymphabflusses und der ständige Kontakt der Atemwege mit der Umwelt eine Rolle in der Entwicklung einer Tracheobronchitis oder Pneumonie (104).

Der häufigste Auslöser für die Entwicklung einer Pneumonie ist eine Infektion mit Bakterien (104). Ihr Auftreten ist in den ersten Monaten nach Transplantation am wahrscheinlichsten (105–107), wenngleich das Risiko für eine Pneumonie anhaltend erhöht bleibt (104, 108). Häufigster Erreger ist *Pseudomonas aeruginosa*, gefolgt von *Acinetobacter baumannii* und *Staphylococcus aureus* (106–108). Das Cytomegalievirus (CMV) ist für die meisten viralen Infektionen bzw. Reaktivierungen der Lunge verantwortlich, daher gehört die antivirale Prophylaxe mit Valganciclovir zur Vermeidung einer CMV-Infektion/Reaktivierung zum Standard nach Lungentransplantation (109). Ohne Prophylaxe liegt die Prävalenz einer CMV-Erkrankung bei etwa 38-75% aller Lungentransplantierten (110). Die Leitlinien empfehlen für die Kombination aus seropositivem Spender und seronegativem Empfänger (D+/R-) eine Prophylaxe über 6-12 Monate und bei seropositivem Empfänger für mindestens 6 Monate (109). Für die Kombination D-/R- gibt es keine generelle Empfehlung, dennoch wenden etwa 20 % aller Zentren auch hier eine Prophylaxe an (109, 111). Die Verwendung einer prophylaktischen Therapie reduziert die Rate an CMV-Erkrankungen und CMV-assoziiierter Mortalität signifikant (112). Die höchsten Mortalitätsraten haben Patienten mit einem CMV-mismatch (D+/R- > D-/R+) (62). Nach Diagnosestellung einer CMV-

Erkrankung oder CMV-Pneumonitis erfolgt eine zweiwöchige orale oder intravenöse Therapie mit (Val-) Ganciclovir (113). Andere virale Erreger sind beispielsweise ambulant erworbene Virusinfektionen (*community-acquired respiratory virus*, CARV): Adenoviren, Influenzaviren, Parainfluenzaviren, humane Metapneumoviren (hMPV), Rhinoviren u. a. (104). Pilzinfektionen treten bei etwa 15-30% der Patienten nach Lungentransplantation auf, davon werden über 80% durch Aspergillus- und Candidaspezies verursacht (114). Bei Candida handelt es sich zumeist um eine Kolonisation der Atemwege, eine invasive Candidose ist sehr selten (115). Die Mortalität einer Pilzinfektion liegt trotz effektiver Behandlung bei etwa 60% (114). Von den meisten Zentren wird eine antimykotische Prophylaxe mit Itraconazol von unterschiedlicher Dauer (etwa sechs Monate) durchgeführt (114). Zudem wird bis zur Abheilung der Anastomosen häufig zusätzlich inhalatives Amphotericin B angewandt. Grund hierfür ist die Prophylaxe einer Anastomoseninfektion durch Aspergilluspezies (113, 114).

1.1.7.4 Humorale Transplantatabstoßung

Die humorale oder Antikörper-vermittelte Abstoßung (*antibody-mediated rejection*, AMR) ist eine komplexe Form der Transplantatdysfunktion, welche durch das Vorkommen von donorspezifischen anti-HLA-Antikörpern (*donor-specific antibody*, DSA), dem bioptischen Nachweis von Komplementablagerung (C4d) entlang der Lungenkapillaren, dem histologischen Nachweis einer neutrophilen Kapillaritis und Arteriitis sowie klinischen Hinweisen auf eine Allograftdysfunktion gekennzeichnet ist (113, 116–119). Die Häufigkeit der Entwicklung von *de novo* DSA nach Transplantation beträgt 25-55% (116, 120) und ist mit einem verkürzten Überleben und einer erhöhten Inzidenz an akuter Transplantatabstoßung (*acute cellular rejection*, ACR), AMR und BOS assoziiert (121–123). Auch Patienten mit präformierten anti-HLA-Antikörpern haben höhere Raten an ACR, AMR und BOS und weisen schlechtere Überlebensraten auf (117, 124–126).

Die Behandlungsempfehlungen der AMR beruhen auf kleinen Fallserien oder Einzelfallberichten; zur Anwendung kommen Kombinationen aus Plasmapherese, intravenöser Immunglobulingabe, ATG oder Rituximab (106). Auch vor Transplantation können genannte Maßnahmen zur Desensibilisierung anti-HLA-Antikörper-tragender Patienten zum Einsatz kommen; die Bedeutung hinsichtlich der Verbesserung des Überlebens ist jedoch widersprüchlich (127, 128).

1.1.7.5 Akute Transplantatabstoßung

Die akute zelluläre Transplantatabstoßung ist eine häufige und ernsthafte Komplikation nach Lungentransplantation, die trotz aller Fortschritte in der Verwendung von Immunsuppressiva bei etwa 30% der Patienten innerhalb des ersten Jahres nach Transplantation auftritt (62) und für 3,2% der Sterbefälle innerhalb der ersten 30 Tage verantwortlich ist (14). Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer ACR ist innerhalb der ersten sechs Monate nach Transplantation am höchsten und nimmt im weiteren Transplantationsverlauf ab (129). Die ACR selbst führt selten zu einer Transplantatdysfunktion, sie spielt jedoch als Hauptrisikofaktor für die Entwicklung eines BOS indirekt hinsichtlich des Langzeitoutcomes nach Transplantation eine entscheidende Rolle (130).

1.1.7.5.1 Risikofaktoren

In mehreren Studien konnten verschiedene Faktoren identifiziert werden, die zur Entwicklung einer ACR beitragen: geringe Übereinstimmung von HLA zwischen Donor und Empfänger (131, 132), ein bestimmter Multi-Drug-Resistant-Genotyp (133) sowie eine Variation des *chemokine (C-C Motif) ligand 4 like* (CCL4L)-Gens (134) oder des CD14-Rezeptors (135) stimulieren die Immunantwort und darüber die Wahrscheinlichkeit einer ACR, wohingegen Genotypen mit vermehrter IL-10-Produktion weniger häufig eine akute Abstoßung erfahren (136). Neben dem immunsuppressiven Regime beeinflussen außerdem gastroösophagealer Reflux (137) und ambulant erworbene Virusinfektionen (138) die Auftretenswahrscheinlichkeit einer ACR.

1.1.7.5.2 Klinische Präsentation und Diagnostik

Das klinische Erscheinungsbild einer ACR ist unspezifisch, zum Teil sogar asymptomatisch und gleicht dem anderer Komplikationen (insbesondere Infektionen) nach Transplantation (139, 140). Einige Studien konnten einen erhöhten Blutplasmaanteil von Eosinophilen, Basophilen und/oder Lymphozyten während einer ACR nachweisen, die Sensitivität der Ergebnisse war allerdings gering (141–143). Der spirometrische Abfall der Einsekundenkapazität (*forced expiratory volume in one second*, FEV₁) ist ein typisches Zeichen für das Vorliegen einer ACR. Allerdings ist der FEV₁-Abfall weder spezifisch, noch schließt eine normale FEV₁ eine akute Abstoßung aus (144, 145). Auch bildgebende Verfahren sind zur sicheren Diagnosestellung einer ACR aufgrund ihrer niedrigen Sensitivität eher ungeeignet (138, 146, 147). Angesichts der Ungenauigkeit der nicht-invasiven Untersuchungen ist die Bronchoskopie mit

transbronchialer Biopsie (TBB) und histologischer Untersuchung nach wie vor Goldstandard der Diagnostik bei vermuteter Abstoßung (148). Neben der klinisch-indizierten Bronchoskopie führen viele Zentren in regelmäßigen Abständen (z. B. ein Monat, drei Monate, sechs Monate, zwölf Monate und dann jährlich nach LTX) Kontroll-Bronchoskopien durch (149). Rationale dahinter ist, dass trotz klinischer Beschwerdefreiheit in circa 25 % der Kontroll-Bronchoskopien behandelbare Diagnosen gestellt werden können (140). Die Inzidenz von klinisch inapparenten ACR Grad A ≥ 2 bzw. Grad B ≥ 2 (ISHLT 1996) lag in Studien bei 14-24 % (140, 150, 151) respektive 14 % (152). Dennoch konnte bisher nicht gezeigt werden, dass die Durchführung von Kontroll-Bronchoskopien zu einer Verminderung des BOS-Auftretens oder zu einer Verlängerung des Überlebens führt (153, 154).

Das histopathologische Kennzeichen einer ACR sind mononukleäre Zellinfiltrate, die sich entweder um kleine Blutgefäße und Kapillaren (Grad A) und/oder um kleine Atemwege (Grad B) gruppieren (148, 155). Das erste standardisierte Klassifizierungssystem der akuten zellulären Abstoßung wurde 1990 unter der Schirmherrschaft der ISHLT von einer Gruppe Pathologen verfasst und 1996 und zuletzt 2006 modifiziert und revidiert (148). Die ACR Grad A ist typischerweise durch perivaskuläre und interstitielle mononukleäre Zellinfiltrate, meist T-Lymphozyten, charakterisiert, wengleich in einigen Studien auch eine Vermehrung von B-Zellen und Eosinophilen beschrieben wurde. Eine zunehmende Dicke der mononukleären Zellmanschette um das Blutgefäß bzw. eine zunehmende Infiltration der Zellen in das Interstitium bestimmen die A-Graduierung und somit den Schweregrad der Abstoßung (Grad A0 bis A4) (129, 138, 148, 155). Die ACR Grad B, auch lymphozytäre Bronchiolitis (LB) genannt, ist durch eine mononukleäre Inflammation der Submukosa der Bronchiolen gekennzeichnet, die ggf. durch eosinophile Granulozyten begleitet wird (148). Die Graduierung der ACR Grad B beruht auf der 2006 revidierten („R“) Version der ISHLT und wird seitdem in B0 bis B2R eingeteilt (129, 138, 148, 155). Die ehemalige Einteilung in Grad B0 bis B4 wurde aufgrund von Schwierigkeiten hinsichtlich der Diskriminierung der einzelnen Grade in der transbronchialen Biopsie mit hoher Inter- und Intraobserver-Variabilität verlassen (148, 156, 157). Störfaktoren in der Beurteilung einer ACR sind insbesondere das gleichzeitige Vorliegen einer Infektion oder Zustände, die zu einer akuten Lungenschädigung führen, wie Aspirationen, AMR oder IRI (148, 155, 157). Diese Faktoren tragen im Wesentlichen dazu bei, dass auch nach Modifikation der Klassifizierung durch die ISHLT keine signifikante Verbesserung der Übereinstimmungsrate bei der Beurteilung von transbronchialen Biopsien erzielt werden konnte (158, 159). Die Sensitivität der Detektion einer ACR bei einer klinisch-indizierten TBB lag in einer retrospektiven Studie bei 72 % (150).

Verschiedene Studien haben sich mit der Zell- und Proteinzusammensetzung der bronchoalveolären Lavage (BAL) während einer ACR befasst. In der frühen postoperativen Periode findet sich häufig eine erhöhte Gesamtzellzahl mit deutlicher neutrophiler Alveolitis, wobei sich das Zellprofil etwa einen Monat nach Transplantation normalisiert (160). Zudem zeigen sich Besonderheiten bei der Phänotypisierung der BAL-Zellen lungentransplantierter Patienten im Sinne eines abnehmenden CD4/CD8-Verhältnisses im Verlauf der Transplantation aufgrund einer verminderten Anzahl von CD4-Zellen (160). Hinweise für das Vorliegen einer ACR in der BAL sind eine Erhöhung von Neutrophilen in Abwesenheit einer Infektion (142, 161, 162), eine Erhöhung von Eosinophilen (142, 163, 164) und Basophilen (142, 164) sowie eine Erhöhung von Lymphozyten (lymphozytäre Alveolitis) (142, 162, 164, 165); der Anteil an Makrophagen ist konsekutiv erniedrigt (142, 162, 164, 165). In wenigen Studien wurde ein erhöhter Anteil an B-Lymphozyten (164, 166) und ein erniedrigter Anteil an natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) (164, 166) während einer akuten Abstoßungsreaktion nachgewiesen. Die ACR war in einigen Studien außerdem mit einer Zunahme von CD8⁺-T-Zellen und einer Abnahme bzw. Konstanz von CD4⁺-T-Zellen und dementsprechend erniedrigter CD4/CD8-Ratio assoziiert (160, 164, 166). CD25⁺-T-Zellen und CD8⁺CD25⁺-T-Zellen waren in einer großen retrospektiven Studie von Greenland et al. während einer ACR erhöht (164). Eine Assoziation der akuten zellulären Abstoßung mit erhöhten Konzentrationen von IL-1 (167, 168), IL-6 (168–171), IL-10 (168), IL-15 (167, 172, 173), IL-17 (162), INF- γ (174, 175) und *macrophage inflammatory protein* (MIP)-1 α (168) konnte in einigen Studien nachgewiesen werden. Dennoch sind die Daten zum Teil widersprüchlich und nicht konsistent, so dass derzeit die Diagnosestellung einer ACR, welche ausschließlich auf Parametern der BAL beruht, nicht möglich ist (176).

1.1.7.5.3 Therapie

Die Entscheidung, ab welchem Schweregrad eine ACR behandelt werden sollte, wird aktuell kontrovers diskutiert. Während eine Abstoßung Grad A \geq 2 in der Regel therapiert wird, ist die Therapieentscheidung bei leichteren Abstoßungen und isolierter lymphozytärer Bronchiolitis strittig (129). Retrospektive Studien konnten allerdings nachweisen, dass sowohl die ACR Grad A1 (177) als auch die isolierte ACR Grad B (152) unabhängige Risikofaktoren für das Auftreten eines BOS sind; daher sollte bei allen Abstoßungen, insbesondere bei symptomatischen, eine Behandlung diskutiert werden (129, 138). Die Therapie der ACR besteht aus einer hochdosierten intravenösen Glukokortikoidgabe (i. d. R. 500 mg (250-1000 mg) über drei Tage), wobei bezüglich Dosis und Dauer keine eindeutige Datenlage existiert (138, 178).

1.1.7.6 Chronische Transplantatabstoßung

Der Begriff der chronischen Transplantatabstoßung oder -dysfunktion (*chronic lung allograft dysfunction*, CLAD) wurde erstmals 2010 in der Literatur erwähnt (179) und 2014 durch eine Gruppe von Experten einheitlich definiert. CLAD ist demnach ein übergeordneter Begriff, der alle Formen von chronischem, d.h. über drei Wochen bestehenden, pulmonalen Funktionsverlust umfasst (180, 181). Neben bekannten Ursachen für einen pulmonalen Funktionsverlust (z. B. Infektionen) zählen hierzu vor allem diejenigen Patienten, bei denen keine eindeutige Ursache identifiziert werden kann und bei denen daher von einer chronischen Abstoßung als Grund für den pulmonalen Funktionsverlust auszugehen ist (181). Derzeit sind zwei Hauptphänotypen der CLAD definiert: das BOS und das restriktive Allograftsyndrom (*restrictive allograft syndrome*, RAS) (181).

Vor Einführung der CLAD-Definition wurde der Begriff BOS ubiquitär als Synonym für eine chronische Transplantatabstoßung verwendet. Klinisches Kennzeichen des BOS ist eine persistierende obstruktive pulmonale Funktionsstörung, gekennzeichnet durch einen Abfall der FEV₁ in der Lungenfunktion (182). Beobachtungen bei BOS-Patienten haben jedoch gezeigt, dass einige dieser Patienten ein ausgesprochen gutes Therapieansprechen auf Azithromycin (im Sinne einer deutlichen Verbesserung der FEV₁) hatten und dadurch nicht weiter die Kriterien des BOS erfüllten (183–186). Dieser CLAD-Phänotyp wurde initial als neutrophile reversible Allograftdysfunktion (*neutrophilic reversible allograft dysfunction*, NRAD) bezeichnet, charakterisiert durch eine Zunahme der FEV₁ von $\geq 10\%$ nach zwei- bis dreimonatiger Azithromycin-Therapie bei Vorliegen einer Neutrophilie in der BAL (187). Basierend auf der Tatsache, dass andere Studien keinen Zusammenhang zwischen Neutrophilie in der BAL und Ansprechen auf Azithromycin nachweisen konnten (188–190), wird teilweise auch der Begriff Azithromycin-responsive Allograftdysfunktion (*azithromycin responsive allograft dysfunction*, ARAD) verwendet (180, 191). NRAD/ARAD wird aktuell als reversible Ursache einer CLAD angesehen (und nicht länger als Manifestation einer chronischen Abstoßung) und sollte daher vor Diagnosestellung eines BOS ausgeschlossen werden (181, 191).

Ein weiterer CLAD-Phänotyp ist das RAS, welches durch eine restriktive pulmonale Funktionsstörung, einhergehend mit persistierenden Infiltraten in der Computertomographie (CT) gekennzeichnet ist (181). Das RAS betrifft etwa 30% der Patienten mit CLAD, das mediane Überleben nach Diagnosestellung liegt bei 6-12 Monaten (192). Häufigstes histopathologisches Korrelat ist eine pleuropulmonale Fibroelastose (193). Derzeit gibt es keine etablierten Therapieverfahren. Antifibrotische

Substanzen wie Pirfenidon (194) oder Nintedanib (195) haben in Einzelfällen zu einer Stabilisierung der Erkrankung geführt. Kleine Fallserien beschreiben auch einen Therapieerfolg unter Anwendung von Alemtuzumab (196). Da die Erkrankung in vielen Fällen rasch progredient verläuft, ist die Retransplantation, trotz schlechter Überlebensrate von nur 33% nach drei Jahren (197), die derzeit einzig kurative Therapieoption (181).

Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

Das BOS ist mit etwa 70% der häufigste CLAD-Phänotyp (181). Die Diagnose kann bei einem persistierenden Abfall der FEV₁ (ausgehend vom besten postoperativen Baselinewert und frühestens drei Monate nach Transplantation) und nach Ausschluss reversibler Ursachen gestellt werden (182). Die Schweregradeinteilung erfolgt anhand der Höhe des FEV₁-Verlustes in BOS 0-p (= potentielles BOS) und BOS 1-3 (182). Klinische Symptome sind unspezifisch. Die Durchführung einer Expirations-CT mit typischen radiologischen Zeichen wie Airtrapping bzw. Mosaikmuster kann die Diagnosestellung unterstützen (198).

Es sind eine Reihe von Risikofaktoren identifiziert worden, die zur Entwicklung eines BOS beitragen. Hierzu zählen unter anderem PGD (100–102), ACR Grad A (130, 177, 182, 199), ACR Grad B (152, 182, 200), Vorhandensein von anti-HLA-Antikörpern (121–126), virale Infektionen (ambulant erworbene Virusinfektionen (201, 202), Epstein-Barr-Virus (EBV) (203, 204), Humanes-Herpesvirus 6 (204), CMV (205)), bakterielle Infektionen (206), mykotische Infektionen (206), Kolonisation der Atemwege mit *Pseudomonas aeruginosa* (207, 208) oder *Aspergillus fumigatus* (209), gastroösophagealer Reflux (182), Neutrophilie in der BAL (182) und Luftverschmutzung (210, 211).

Histopathologisches Korrelat des BOS ist die obliterative Bronchiolitis (BO). Die BO ist durch eine chronisch-entzündliche Bindegewebsvermehrung der Bronchiolen gekennzeichnet, die über eine Okklusion des betreffenden Bronchiolus zu einer Atemflusslimitation führen kann (212). Aufgrund der niedrigen Sensitivität von transbronchialen Biopsien bei der Beurteilung der obliterativen Bronchiolitis, basiert die Diagnosestellung des BOS einzig auf dem Abfall der FEV₁ (182). In der BAL wurden unzählige Parameter auf eine Assoziation mit BOS untersucht. Neutrophile sind nicht nur der dominierende Zelltyp bei Patienten mit bereits diagnostiziertem BOS, ihre Erhöhung hat vielmehr auch Vorhersagekraft auf die Entwicklung eines *zukünftigen* Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom (213, 214). In einigen Studien korrelierte die

Konzentration von IL-8 mit der Anzahl an Neutrophilen in der BAL und dem Vorhandensein eines BOS (214–217). IL-17 scheint ebenfalls eine Rolle in der Entwicklung eines BOS zu spielen, die Studienlage ist hier allerdings nicht eindeutig (181).

Die mediane Überlebenszeit nach Diagnosestellung liegt bei 3-5 Jahren (181). Früher Beginn (weniger als zwei Jahre nach Transplantation) oder rascher FEV₁-Abfall (BOS Eintritt im Stadium 2/3) verschlechtern die Prognose (218). Die Behandlungsmöglichkeiten eines BOS sind eingeschränkt. Etwa 35-40% der BOS-Patienten, insbesondere solche mit einer Neutrophilie in der BAL, zeigen ein Therapieansprechen auf Azithromycin (182). In einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie konnte zudem nachgewiesen werden, dass ein Therapiebeginn mit Azithromycin kurz nach Transplantation die Prävalenz eines BOS reduzieren kann und zu einer Verlängerung des BOS-freien Überlebens führt (219, 220). Zwei kleinere Studien konnten eine Verbesserung der FEV₁ im BOS Stadium 1 unter der Therapie mit Montelukast, einem Leukotrien-Rezeptor-Antagonist, als *ad on* zur Azithromycin-Therapie belegen (221, 222). Die Anwendung der extrakorporalen Photopherese (*extracorporeal photopheresis*, ECP) bei fehlendem Therapieansprechen auf Azithromycin war in einigen Studien mit einer Stabilisierung der Lungenfunktion und einer Verbesserung des Überlebens assoziiert (223). Die letzte Therapieoption bei Patienten im Endstadium eines BOS ist die Retransplantation (182).

1.2 Zytokine

Zytokine sind Proteine mit immunmodulierender Signalwirkung, die in unterschiedlicher Weise an Wachstum und Differenzierung von Zellen beteiligt sind. Grundsätzlich kann man sie in fünf Gruppen unterteilen: Interferone, Interleukine, koloniestimulierende Faktoren (*colony stimulating factor*, CSF), Tumornekrosefaktoren und Chemokine (u. a. CCL). Bei lungentransplantierten Patienten wurde das Zytokinmuster in der BAL vor allem beim Vorliegen einer akuten Abstoßungsreaktion und eines BOS in verschiedenen Studien untersucht (162, 167–176, 181, 214–217). Das unter 1.1.7.5.2 bzw. 1.1.7.6 genannte Zytokinmuster in der BAL bei ACR bzw. BOS konnte nicht in allen Studien reproduziert werden, teilweise waren die Ergebnisse sogar widersprüchlich. Problematisch ist vor allem die fehlende Standardisierung von Durchführung und Auswertung der BAL-Proben.

IL-1 β , ein proinflammatorisches Zytokin, wurde beispielsweise beim Vorliegen eines IRI (224), einer Infektion (160, 168, 225), einer CLAD (160, 226, 227) und einer ACR (167,

168, 227) in erhöhter Konzentration in der BAL nachgewiesen. IL-8, ebenfalls ein proinflammatorisches Zytokin, war in verschiedenen Studien bei Infektionen (160, 168, 228), ACR (162, 163, 168, 228, 229), lymphozytärer Bronchiolitis (230) und CLAD (160, 226–229) erhöht. Die Rolle des antiinflammatorischen Zytokins IL-10 in der BAL lungentransplantierten Patienten ist wenig untersucht und lieferte widersprüchliche Ergebnisse (168, 227). Eine erhöhte Konzentration von IL-17 in der BAL korrelierte mit dem Vorliegen einer Infektion (231), einer ACR (162) sowie einer CLAD (227, 231). MIP-1 α ist bei Lungentransplantierten wenig untersucht. In einer Studie war die Konzentration in der bronchoalveolären Lavage bei einer akuten Abstoßungsreaktion erhöht (168). Eine Übersicht über die in dieser Studie untersuchten Zytokine, ihre Ursprungs- und Zielzellen sowie deren Hauptwirkung und Rolle bei Lungentransplantation bietet Tabelle 1. Bei allen untersuchten Zytokinen ist die Datenlage limitiert und die Ergebnisse der Studien inkonsistent bzw. diskrepant.

Einleitung

Tabelle 1: Zytokine und deren Hauptwirkung. Abkürzungen: AS: Anzahl Aminosäuren, LB: lymphozytäre Bronchiolitis, CLAD: chronische Transplantatabstoßung, IRI: Ischämie-Reperfusionsschaden, ACR: akute zelluläre Abstoßung, ⁶ Literaturangaben z. T. widersprüchlich

Zytokin	Protein- größe (AS)	Ursprungszellen	Zielzellen und Hauptwirkung	Rolle bei Lungentransplantation
IL-1β Interleukin-1β	153	Aktivierte Monozyten und Makrophagen, T- und B-Lymphozyten, Endothelzellen, Fibroblasten u.a.	T-Helferzellen: Sekretion von IL-2 und IL-2-Rezeptor (Förderung der Zytotoxizität) T-Lymphozyten: chemotaktische Wirkung B-Lymphozyten: Proliferation und Reifung Makrophagen: Synthese von Prostaglandin E ₂ , TNF- α Granulozyten: Förderung der Migration Wirkung als Pyrogen durch Induktion anderer Zytokine und Hormone (z.B. IL-6, IL-8, TNF- α) PROINFLAMMATION	(erhöht bei IRI, Infektion, ACR, CLAD) ⁶
IL-8 Interleukin-8	72	Aktivierte Monozyten und Makrophagen, Endothelzellen, Fibroblasten u.a.	Neutrophile Granulozyten: Aktivierung und Förderung der Migration Basophile Granulozyten: Stimulation der Histamin- und Leukotrienfreisetzung in Anwesenheit von IL-3 T-Lymphozyten: chemotaktische Wirkung PROINFLAMMATION	(erhöht bei Infektion, ACR, LB, CLAD) ⁶
IL-10 Interleukin-10	160	Aktivierte Monozyten, Mastzellen, T-Lymphozyten u.a.	Monozyten, dendritische Zellen: Hemmung der Bildung von TNF- α , IL-1, IL-2, IL-6 (\rightarrow indirekte Hemmung der T-Zell-Aktivierung), Hemmung der Antigenpräsentation B-Lymphozyten: Förderung der Proliferation T _H 1-Zellen: Inhibition der Zytokinsynthese ANTIINFLAMMATION und IMMUNSUPPRESSION	(erhöht/erniedrigt bei Infektion, ACR) ⁶
IL-17 Interleukin-17	155	T _H 17-Zellen	Neutrophile Granulozyten: Aktivierung und Migration, Förderung der Bildung von IL-1, IL-6 u.a. PROINFLAMMATION	(erhöht bei Infektion, ACR, CLAD) ⁶
MIP-1α = CCL3 macrophage inflammatory protein-1α = CC-chemokine-ligand 3	92	Makrophagen, Lymphozyten u.a.	Granulozyten: Aktivierung Makrophagen, Fibroblasten: Förderung der Bildung von IL-1, IL-6, TNF- α PROINFLAMMATION	(erhöht bei ACR) ⁶

1.3 Fragestellung und Zielsetzung

Die Promotionsarbeit umfasste mehrere Teilbereiche des Gebietes der Lungentransplantation am Universitätsklinikum Gießen und Marburg (UKGM), Standort Gießen:

- Erfassung allgemeiner transplantationsrelevanter Daten von sich im LTX-Programm befindlichen Patienten des UKGM Giessens mit Fokus auf die akute zelluläre Abstoßung und Infektionen
- Etablierung einer Definition der Infektion (bakteriell, mykotisch und viral) bei lungentransplantierten Patienten
- Untersuchung der bronchoalveolären Lavage hinsichtlich der Zell- (Routinediagnostik) und Zytokinzusammensetzung (keine Routinediagnostik, Auswertung im Rahmen der Studie) während einer akuten zellulären Abstoßungsreaktion

Anschließend sollten zudem folgende Fragen beantwortet werden:

1. Inwieweit stimmen die von uns erhobenen transplantationsrelevanten Daten mit denen der aktuellen Literatur überein und wie lassen sich diese im Kontext der jüngsten Entwicklung auf dem Gebiet der Lungentransplantation interpretieren?
2. Existieren infektionsbedingte Risikofaktoren für das Auftreten einer akuten zellulären Abstoßungsreaktion?
3. Kann die Zell- und Zytokinzusammensetzung der bronchoalveolären Lavage Hinweise auf das Vorliegen einer akuten Abstoßung liefern? Könnte dadurch ggf. die Entnahme transbronchialer Biopsien ersetzt werden?
4. Liegt bei einer ACR, einem BOS und einer Infektion ein unterschiedliches Zytokinmuster vor und könnte dies bei der differentialdiagnostischen Beurteilung der genannten Entitäten behilflich sein?

2. Material und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Geräte

- Eppendorf Research[®]-Pipetten (Eppendorf, Hamburg (Deutschland))
- Reagiergefäße 1,5 ml (Sarstedt AG & Co, Nürnberg (Deutschland))
- Costar 1 x 8 Stripwell 96-Well Mikrotiterplatte (Corning, Corning, New York (USA))
- Dunkelkiste (von Keutz, Reiskirchen (Deutschland))
- Gefrierschrank (Siemens, Berlin (Deutschland))
- Aqua dest. Miliporanlage (Merck Millipore, Darmstadt (Deutschland))
- Zentrifuge Hettich Mikro 22R (Hettich, Tuttlingen (Deutschland))
- ELISA Reader ELx808 (BioTek, Winooski, Vermont (USA))
- Mikroplate Reader / Imager Software (BioTek, Winooski, Vermont (USA))

2.1.2 Reagenzien/Lösungen

2.1.2.1 KHB-Puffer (Krebs-Henseleit Puffer)

- NaCl (Natriumchlorid) (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- KCl (Kaliumchlorid) (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ (Calciumchlorid) (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ (Magnesiumsulfat) (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- NaHCO_3 (Natriumhydrogencarbonat) (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- KH_2PO_4 (Kaliumdihydrogenphosphat) (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- D(+)-Glucose (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- HEPES (2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure) (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- Deferoxamin (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- DETC (Diethyldithiocarbamat) (Noxygen, Elzach (Deutschland))
- Aqua dest.

2.1.2.2 Zytokin-ELISA

- PBS (Phosphat Buffered Saline) (Lonza, Basel (Schweiz))
- Tween[®] 20 (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- BSA (Bovine Serum Albumins) (Sigma, Taufkirchen (Deutschland))
- H₂SO₄ (Schwefelsäure) 1 mmol/l 2N Maßlösung (Roth, Karlsruhe (Deutschland))
- Aqua dest.

2.1.2.2.1 Standard, Antikörper, Konjugat, Substrat

Standard (R&D Systems, Wiesbaden (Deutschland)):

- rekombinantes humanes IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17, MIP-1 α

Primärantikörper (capture antibody) (R&D Systems, Wiesbaden (Deutschland)):

- anti-humanes IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17, MIP-1 α von der Maus

Sekundärantikörper (detection antibody) (R&D Systems, Wiesbaden (Deutschland)):

- biotinyliertes anti-humanes IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17, MIP-1 α von der Ziege

Konjugat (R&D Systems, Wiesbaden (Deutschland)):

- Streptavidin-HRP (Streptavidin Horseradish Peroxidase)

Substrat (R&D Systems, Wiesbaden (Deutschland)):

- 5 ml Farbreagenz A (H₂O₂)
+ 5 ml Farbreagenz B (Tetramethylbenzidine) im Verhältnis 1:1

2.1.2.2.2 Puffer

Waschpuffer:

- 100 ml PBS
+ 900 ml Aqua dest.
+ 500 μ l Tween 0,05 %
pH 7,2-7,4

Diluent und Blockpuffer:

- 1000 ml PBS
+ 10 g BSA 1 %
pH 7,2-7,4

KHB-Puffer:

Substanz	Molekulargewicht (g/mol)	Konzentration (mM)	g/l
NaCl	58,44	99,00	5,786
KCl	74,55	4,69	0,350
CaCl ₂ x 2H ₂ O	147,02	2,50	0,368
MgSO ₄ x 7H ₂ O	246,48	1,20	0,296
NaHCO ₃	84,01	25,00	2,100
KH ₂ PO ₄	136,10	1,03	0,142
D(+)-Glucose	180,02	5,60	1,009
HEPES	260,30	20,00	5,206

Die Substanzen werden in 1 l Aqua dest. gelöst und steril gefiltert (0,22 µm Sterilfilter), danach werden 25 µM (0,01642 g/l) Deferoxamin und 5 µM (0,00113 g/l) DETC zugefügt. Der pH wird auf 7,4 eingestellt.

2.2 Methoden

2.2.1 Studienprotokoll und Patienten

Im Rahmen dieser großen klinischen Studie wurden mehrere Teilaspekte auf dem Gebiet der Lungentransplantation des UKGM Gießens mit Fokus auf die akute zelluläre Abstoßung untersucht. Wesentlicher Bestandteil war die Analyse der bronchoalveolären Lavage zum Zeitpunkt einer ACR. Neben der Erfassung der Zellzahl und Zelldifferenzierung wurde die Konzentration an reaktiven Sauerstoffspezies (*reactive oxygen species*, ROS) und die Konzentration an Zytokinen bestimmt.

Die Zellzahlbestimmung und Zelldifferenzierung der bronchoalveolären Lavage erfolgte durch das Routinelabor der Infektiologie des UKGM Gießens, die Messung der ROS-Konzentration in der BAL durch Frau Dipl. Biol. Susan Scheibe der AG Weißmann am ECCPS (*Excellence Cluster Cardio-Pulmonary System*) Gießen (→ „Detektion reaktiver Sauerstoffspezies im kardiopulmonalen System mittels ESR-Spektroskopie“) und die Datenakquise sowie die Bestimmung der Zytokinkonzentration in der BAL durch die AG Mayer der Medizinischen Klinik II des UKGM bzw. ECCPS Gießens.

In die Studie wurden 89 lungentransplantierte Patienten, die sich im Zeitraum zwischen Februar 2013 und September 2017 im LTX-Programm befanden, eingeschlossen. Das Material für die Studie wurde aus Kontroll-Bronchoskopien (routinemäßige Durchführung nach einem, drei, sechs, neun, zwölf, 24 und 36 Monat(en)) oder aus klinisch-indizierten Bronchoskopien gewonnen. Neben der transbronchialen Biopsie und bronchoalveolären Lavage (Zytologie, Mikrobiologie, Virologie, Zellzahl und -differenzierung, ROS- und Zytokinbestimmung) wurden von jedem Patienten zum Bronchoskopiezeitpunkt zusätzlich folgende Parameter, sofern verfügbar, erfasst: Symptome, spirometrische Daten, Immunsuppressiva (-spiegel), Prophylaxen, Vorliegen eines BOS, einer ACR, einer kryptogen organisierenden Pneumonie (*cryptogenic organizing pneumonia*, COP) und/oder einer Infektion. Die Untersuchung der bronchoalveolären Lavage auf ROS und Zytokine erfolgte aus Restmaterial nach Abschluss der klinischen Routinediagnostik.

Das Patientenkollektiv wurde zudem hinsichtlich Geschlecht, Transplantationsindikation, Alter bei Transplantation, Transplantationsort, OP-Verfahren (uni- bzw. bilaterale Transplantation), CMV-Status und der zeitlichen Entwicklung eines BOS untersucht.

Die Datenakquise erfolgte durch Durchsicht der Krankenakten und Implementierung der Parameter in anonymisierter Form in eine dafür angelegte Datenbank. Die Studie wurde durch die Ethikkommission ohne Einwände genehmigt (Votumsnummer 187/14) und nach erfolgter Aufklärung und Einverständniserklärung der Patienten durchgeführt. Exklusionskriterien waren eine Ablehnung der Studienteilnahme durch die Patienten oder das Vorliegen einer COP zum Untersuchungszeitpunkt.

2.2.2 Immunsuppression und Prophylaxen

Die immunsuppressive Erhaltungstherapie bestand im Regelfall aus der Kombination von Prednisolon, Tacrolimus und MMF. Eine Induktionstherapie wurde nicht durchgeführt. Bei Entwicklung einer Niereninsuffizienz erfolgte im Einzelfall eine Umstellung von MMF auf Everolimus.

Nach Transplantation wurde mit einer antibakteriellen, antiviralen und antimykotischen Prophylaxe begonnen. Die Patienten erhielten ab dem ersten postoperativen Tag dreimal pro Woche Azithromycin und Cotrimoxazol sowie tägliche Inhalationen mit Tobramycin. Inhalatives Tobramycin wurde in aller Regel nach Abheilung der Anastomosen abgesetzt. Zur Prophylaxe einer CMV-Infektion erfolgte die Applikation von intravenösem, körporgewichtsadaptiertem CMV-Immunglobulin (Cytotect®) am ersten und siebten postoperativen Tag, gefolgt von täglich eingenommenem Valganciclovir. Die Dauer der Valganciclovir-Einnahme war unabhängig vom CMV-

Status und erfolgte bei guter Verträglichkeit über mindestens zwei Jahre. Bei Unverträglichkeit wurde auf eine monatliche, intravenöse Gabe von CMV-Immunglobulin (Cytotect®) für die Dauer von einem Jahr umgestellt. Zur Pilzprophylaxe erhielten die Patienten täglich Itraconazol und inhalatives Amphotericin. Die inhalative Therapie mit Amphotericin wurde in aller Regel nach Abheilung der Anastomosen beendet.

2.2.3 Spirometrie

Die Erhebung von spirometrischen Parametern erfolgte im Rahmen von ambulanten oder stationären Surveillanceterminen, bei klinischen Auffälligkeiten oder bei einer durch das Peak-Flow-Meter detektierten Abnahme des expiratorischen Spitzenflusses (*peak expiratory flow*, PEF). Das Peak-Flow-Meter ist ein kleines Handgerät, mit dessen Hilfe lungentransplantierte Patienten täglich ihren PEF-Wert zu Hause kontrollieren.

Die Lungenfunktionsparameter wurden mit dem MasterScreen™ Bodyplethysmograph der Firma CareFusion (Höchberg (Deutschland)) erhoben. Die FEV₁ ist das maximal ausgeatmete Volumen innerhalb der ersten Sekunde einer forcierten Expiration nach maximaler Inspiration, ausgedrückt in Prozent vom Sollwert. Gemäß der deutschen Leitlinie zur Spirometrie und den Kriterien der *American Thoracic Society* sollen mindestens drei reproduzierbare Messungen der FEV₁ ermittelt werden; der beste FEV₁-Wert wird für die weiteren Analysen verwendet (232, 233). Als FEF_{25-75 %} (*mean forced expiratory flow between 25-75 % of FVC*) wird die mittlere maximale expiratorische Atemstromstärke, die zwischen 25 und 75% der forcierten Vitalkapazität (*forced vital capacity*, FVC) ausgeatmet wird, bezeichnet. Sie gilt als Frühmarker einer obstruktiven Ventilationsstörung. Der Tiffenau-Index (FEV₁/FVC oder FEV₁/VC) ist definiert als Einsekundenkapazität in Prozent der Vitalkapazität. Er ist bei obstruktiven Ventilationsstörungen erniedrigt (232, 233).

2.2.4 Bronchoskopie

Die bronchoskopischen Untersuchungen wurden mit einem fiberoptischen Bronchoskop (Evis Exera III CV-190) der Firma Olympus durchgeführt. Nach Prämedikation (1 mg Atropin, 2 mg Midazolam, 2 mg Palladon) und anschließender körperrgewichtsadaptierter Sedierung mit Propofol erfolgte die orale Intubation mit einem doppellumigen Spiraltubus (Mediland, Rudersberg (Deutschland)). Über das kleinere Lumen wurde während der Untersuchung kontinuierlich Sauerstoff appliziert, über das größere Lumen erfolgte die Ein- und Ausführung des Bronchoskops. Nach zusätzlicher topischer

Applikation von je 2ml Xylocain 2% in die Trachea sowie in beide Hauptbronchien erfolgte zunächst die Inspektion aller Lungenlappen bis auf Segmentebene. Im Anschluss wurde der rechte Oberlappen mit 10ml NaCl 0,9% gespült, das Sekret mit einem trachealen Saugset (Dahlhausen, Köln (Deutschland)) aufgefangen und zur mikrobiologischen Untersuchung weitergeleitet. Darauf folgte die Durchführung der bronchoalveolären Lavage. Hierzu wurde das Bronchoskop in den Mittellappen oder die Lingula positioniert, in das entsprechende Segment fraktioniert 150ml einer sterilen, 20°C warmen NaCl 0,9%-Lösung instilliert und anschließend wieder aspiriert. Das rückgewonnene Material (Recovery) wurde zusammengefügt und in drei 10ml-Gefäße für Zytologie, Mikrobiologie und Virologie sowie in 50ml-Gefäße für das Infektionslabor aufgeteilt.

Nach Durchführung der BAL wurden aus der Lungenperipherie des rechten oder linken Ober- und Unterlappens mit Hilfe einer Biopsiezange (EndoJaw FB-231D, Olympus, Hamburg (Deutschland)) und unter Durchleuchtung mit einem mobilen C-Bogen (BV Pulsera, Philips, Hamburg (Deutschland)) je fünf transbronchiale Biopsien gewonnen. Ergänzende TBBs erfolgten bei radiologischen Auffälligkeiten. Die Proben wurden in vorgefertigten Röhrchen mit 4%iger Formaldehydlösung (Kabe Labortechnik, Nürnberg-Eisenroth (Deutschland)) gesammelt und jede einzelne Biopsie visuell auf Vorhandensein von ausreichendem Gewebe analysiert. Bei makroskopisch auffälligem Mukosabefund wurden zusätzlich endobronchiale Schleimhautbiopsien entnommen. Die Biopsien wurden nach Abschluss der bronchoskopischen Untersuchung an das Institut für Pathologie weitergeleitet.

Etwa zwei Stunden nach Bronchoskopie wurde eine Röntgenuntersuchung des Thorax zum Ausschuss eines Pneumothorax durchgeführt.

2.2.4.1 Transbronchiale Biopsie

Die Beurteilung der transbronchialen und ggf. endobronchialen Biopsien erfolgte durch das Institut für Pathologie. Die in Formaldehyd fixierten Proben wurden zur Anfertigung von Schnittpräparaten zunächst in Paraffin eingebettet und anschließend gefärbt (Hämatoxylin-Eosin (HE) (Übersichtsfärbung), Elastica/Trichrom (Färbung zur Darstellung von Bindegewebskomponenten), Grocott (Färbung zur Darstellung von Pilzen und *Pneumocystis jirovecii*)). Die Beurteilung einer CMV-Infektion erfolgte immunhistochemisch, ebenso wie die Differenzierung der Lymphozyten-Subpopulationen. Die Diagnose einer ACR wurde anhand der ISHLT-Kriterien durch einen erfahrenen Facharzt für Pathologie gestellt (148).

2.2.4.2 Bronchoalveoläre Lavage

Die zytopathologische Beurteilung der BAL erfolgte durch einen erfahrenen Zytopathologen. Die Proben wurden zytozentrifugiert, gefärbt (HE, Ziehl-Neelsen (Färbung zur Darstellung von „säurefesten“ Bakterien), Grocott), mikroskopiert und befundet.

Die mikrobiologische Untersuchung erfolgte durch das Institut für Mikrobiologie. Zur Kultivierung von Mikroorganismen wurden die BAL-Proben zunächst auf verschiedene Nährmedien aufgebracht. Verwendet wurden beispielsweise Blut- bzw. Kochblutagar, Pilzagar oder Selektivmedien wie MacConkey-Agar und Schaedler-Agar zur selektiven Anzucht von gramnegativen Bakterien respektive Anaerobiern. Die erste Beurteilung der Nährmedien erfolgte nach 24 Stunden, die zweite Beurteilung nach 48 Stunden. Bei einem Wachstum von Mikroorganismen erfolgte im Anschluss die Erstellung eines Antibiogrammes.

Die virologische Diagnostik der BAL wurde durch das Institut für Virologie durchgeführt. Die Amplifikation der Virusgenome erfolgte dabei mittels Polymerase-Kettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR). Getestet wurde auf Herpes-Simplex-Viren (HSV-1 und HSV-2), Varizella-Zoster-Virus (VZV), EBV, CMV sowie respiratorische Viren (Influenza- und Parainfluenzavirus, Coronavirus, Entero-/Rhinovirus, Adenovirus, humanes Metapneumovirus, Bocavirus und respiratorisches Synzytialvirus).

Die Beurteilung der Zellzahl und die Zelldifferenzierung erfolgten durch das Institut für Infektiologie. Die Proben wurden innerhalb weniger Minuten nach Durchführung der BAL für acht Minuten bei 1400 rpm und 20 °C zentrifugiert (Zentrifuge MegaStar 3.0R, VWR, Darmstadt (Deutschland)). Der Überstand wurde abgenommen, in ein Zentrifugenröhrchen (50 ml Röhrchen aus Polypropylen, greiner-bio-one, Frickenhausen (Deutschland)) dekantiert und bis zur Abholung bei 4 °C im Kühlschrank aufbewahrt. Das Zellpellet wurde in Zellkulturmedium für Leukozyten (RPMI (Roswell Park Memorial Institute)-1640-Medium + 10% FCS (fetales Kälberserum), Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, Kalifornien (USA)) resuspendiert. Im Anschluss erfolgte die Aliquotierung der Suspension in ein 10 µl Aliquot für die mikroskopische Zellzahlbestimmung, in vier 100 µl Aliquots für die Anfertigung von Zellausstrichen und in ein 100 µl Aliquot für die *fluorescence-activated cell sorting* (FACS)-Analyse (BD FACSCanto II, BD, San Jose, Kalifornien (USA)). Das FACS ist ein durchflusszytometrisches Verfahren, das bei der Auftrennung von Fluoreszenz-markierten Zellen in die einzelnen Zellpopulationen zur Anwendung kommt. Hierüber erfolgte außerdem die Differenzierung der einzelnen Lymphozyten-Subpopulationen. Die Dauer von Zentrifugation bis zur Aliquotierung betrug in etwa 20 Minuten.

Das Restmaterial der aus der BAL aufbereiteten zellhaltigen Fraktion sowie der gekühlt gelagerte Überstand wurden für die klinische Studie (ROS- bzw. Zytokinmessung) zur Verfügung gestellt. Der Überstand wurde nach Erhalt bei -20°C tiefgefroren, die Zellsuspension weiter verarbeitet.

Die Zellsuspension wurde für die ROS- bzw. Zytokinmessung nochmals für fünf Minuten bei 1200 rpm und 20°C zentrifugiert (Zentrifuge Rotanda 460R, Hettich, Tuttlingen (Deutschland)) und anschließend auf Eis weiterverarbeitet. Das Zellkulturmedium wurde abgenommen und verworfen, das Zellpellet mit KHB-Puffer resuspendiert. Hieraus erfolgte die Messung der reaktiven Sauerstoffspezies mittels *electron spin resonance* (ESR)-Spektroskopie (→ „Detektion reaktiver Sauerstoffspezies im kardiopulmonalen System mittels ESR-Spektroskopie“, Promotionsarbeit Dipl. Biol. Susan Scheibe). Die für den ESR-Versuch nicht benötigte Zellsuspension wurde für die folgende Zytokinbestimmung bei -20°C tiefgefroren. Dieser Arbeitsschritt dauerte etwa 20 Minuten.

2.2.4.2.1 Zytokinmessung mittels ELISA

Der *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) ist ein auf Antigen-Antikörper-Reaktion beruhendes enzymatisches Nachweisverfahren. Dabei besteht der sogenannte Sandwich-ELISA aus zwei verschiedenen Antikörpern, dem Primär- und Sekundärantikörper, die beide spezifisch an das nachzuweisende Antigen (in diesem Fall das Zytokin) binden. In einem ersten Schritt reagiert das Antigen mit dem an einer Mikrotiterplatte heftenden Primärantikörper (*capture antibody*) im Sinne einer Antigen-Antikörper-Bindung. Nach Inkubation und Entfernung der ungebundenen Bestandteile wird in einem zweiten Schritt der enzymgekoppelte Sekundärantikörper (*detection antibody*) hinzugegeben, der ebenfalls an das Antigen bindet. In einem dritten Schritt wird ein zu dem Enzym passendes Chromogen hinzugegeben, wodurch eine Farbreaktion katalysiert wird. Die Intensität der Farbreaktion wird photometrisch bestimmt und anschließend mit einer Standardreihe (Antigene mit bekannter Konzentration) verglichen. Hierüber kann die Konzentration des gesuchten Antigens ermittelt werden.

Für die Konzentrationsmessung der Zytokine IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17 und MIP-1 α in der BAL wurde das ELISA-Kit DuoSet[®] der Firma R&D Systems Wiesbaden verwendet. Die Kits beinhalten den Standard, den Primär- und Sekundärantikörper sowie das Konjugat (= Enzym).

Für die Adsorption des für das jeweilige Zytokin spezifischen Primärantikörpers an die Mikrotiterplatte wurde dieser zunächst in der vom Hersteller angegebenen Arbeitskonzentration mit PBS verdünnt und anschließend je 100 µl des verdünnten Antikörpers pro Kavität auf die Platte aufgebracht. Die Mikrotiterplatte wurde daraufhin bei 4 °C über Nacht inkubiert. Die Entfernung des überschüssigen Primärantikörpers erfolgte anschließend durch dreimaliges Waschen mit PBS/Tween und Ausschlagen der Platte auf Papiertüchern. Zur Blockierung unspezifischer Bindungsstellen wurde auf jede Kavität 300 µl Blockungspuffer aufgebracht und für eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Zwischenzeitlich wurde die BAL-Probe aufgetaut, bei 1200 rpm für fünf Minuten zentrifugiert und der Überstand mit den Zytokinen für die weitere Verarbeitung abgenommen. Nach erneutem dreimaligem Waschen der Mikrotiterplatte nach oben genanntem Prinzip wurden die Standardlösungen, der Bezugsleerwert (Blank) und die Proben mit den darin enthaltenen Zytokinen (jeweils 100 µl pro Kavität) hinzugegeben und erneut bei 4 °C über Nacht inkubiert.

Als Blank diente eine Befüllung von zwei Kavitäten mit Diluent. Die Standardlösungen wurden in insgesamt 16 Kavitäten pipettiert, die acht Verdünnungsstufen (verdünnt wurde mit Diluent), jeweils doppelt aufgetragen, enthielten. Die Zytokine wurden unverdünnt aufgetragen. Der Standardbereich von MIP-1α, IL-10 und IL-17 betrug 3,9-500 pg/ml, der von IL-1β 1,95-250 pg/ml und der von IL-8 15,6-1000 pg/ml. Als Sensitivitätsgrenze wurde 1 pg/ml festgelegt. Lag die Konzentration unterhalb des Detektionslimits, wurde aus statistischen Gründen ein Wert von 1 pg/ml angenommen.

Nach Inkubation und Bindung des Antigens (= Zytokin) an den spezifischen Primärantikörper im Sinne eines Antigen-Antikörper-Komplexes und erneutem dreimaligen Waschen wurden jeweils 100 µl des Sekundärantikörpers nach Verdünnung mit Diluent in der vom Hersteller angegebenen Arbeitskonzentration hinzugefügt. Anschließend erfolgte die erneute Inkubation für zwei Stunden bei Raumtemperatur. Nach dreimaligem Waschen wurden 100 µl Konjugat (verdünnt mit Diluent in Arbeitskonzentration nach Herstellerangaben) pro Kavität hinzugegeben und wiederum bei Raumtemperatur für 20 Minuten inkubiert. Im Anschluss wurde dreimal gewaschen, um überschüssigen, ungebundenen Sekundärantikörper und Konjugat zu entfernen. Danach wurden je 100 µl Substrat zugefügt und für 20 Minuten bei Raumtemperatur im Dunklen (Dunkelkiste) inkubiert. Hierdurch wurde ein Farbumschlag katalysiert, dessen Intensität proportional zur Zytokinkonzentration in der jeweiligen Kavität anstieg. Durch Hinzugabe von 50 µl H₂SO₄ wurde die Reaktion beendet.

Direkt im Anschluss wurde die Exstinktion (= optische Dichte, *optical density*, OD) der jeweiligen Kavität bei einer Wellenlänge von 450 nm mittels ELISA Reader gemessen.

Aus der optischen Dichte der Verdünnungsreihe resultierte die Standardkurve, aus welcher nachfolgend anhand einer 4-Parameter-Regression die Konzentration der jeweiligen Zytokine berechnet wurde.

2.2.5 Definition von Infektion/Kolonisation, ACR und BOS

2.2.5.1 Infektion/Kolonisation der Atemwege

Derzeit gibt es keine einheitliche Definition der Infektion bzw. Kolonisation bei lungentransplantierten Patienten. Für das Studienkollektiv wurde daher eine solche etabliert (jeweils für die bakterielle, mykotische und virale Infektion bzw. Kolonisation) und bei jedem Patienten in gleicher Weise angewandt. Die Erstellung der Definition gründet auf Empfehlungen der ISHLT (234), der *American Society of Transplantation* (AST) (235) und dem *CMV Drug Development Forum* (236).

2.2.5.1.1 Bakterielle Infektion und Kolonisation

Die bakterielle Infektion wurde eingeteilt in das Vorliegen einer *Pneumonie* bzw. *Tracheobronchitis/Anastomositis* und das Vorliegen einer reinen *Kolonisation* der Atemwege. Eine Infektion wurde als „bewiesen“ definiert, wenn ein Erreger in der Mikrobiologie isoliert werden konnte (oder bei positiver Histologie im Falle einer Tracheobronchitis) und als „wahrscheinlich“, wenn kein Erreger isoliert wurde (Tabelle 2 und 3).

Bakterielle Pneumonie

Tabelle 2: Definition einer bakteriellen Pneumonie (bewiesen (1) und wahrscheinlich (2)). Bei einer bewiesenen bakteriellen Pneumonie müssen Symptome, Radiologie und Mikrobiologie positiv sein, bei einer wahrscheinlichen Pneumonie Symptome und Radiologie. Abkürzungen: CRP: C-reaktives Protein, BAL: bronchoalveoläre Lavage

	Pneumonie, bewiesen (1)	Pneumonie, wahrscheinlich (2)
Symptome	<ul style="list-style-type: none"> - ≥ 1: → Fieber oder Hypothermie → Leukozytose oder –penie oder CRP-Erhöhung <p>PLUS</p> <ul style="list-style-type: none"> - ≥ 2: → eitriges Sputum/Veränderung Sputum/vermehrt Sekret → Husten/Dyspnoe/auffällige körperliche Untersuchung → Verschlechterung des Gasaustausches → Pleuraerguss 	wie bei 1
Radiologie	auffällig	wie bei 1
Mikrobiologie	<ul style="list-style-type: none"> - ≥ 1: → pos. Blutkultur → pos. Kultur Pleuraerguss → pos. Kultur Sputum/BAL 	negativ

Bakterielle Tracheobronchitis/Anastomositis

Tabelle 3: Definition einer bakteriellen Tracheobronchitis (bewiesen (1) und wahrscheinlich (2)). Bei einer bewiesenen bakteriellen Tracheobronchitis/Anastomositis müssen entweder Symptome und Mikrobiologie oder die Histologie positiv sein, bei einer wahrscheinlichen Tracheobronchitis/Anastomositis nur Symptome. Abkürzungen: BAL: bronchoalveoläre Lavage

	Tracheobronchitis/ Anastomositis, bewiesen (1)	Tracheobronchitis/ Anastomositis, wahrscheinlich (2)
Symptome	<ul style="list-style-type: none"> - ≥ 1: → Husten/Dyspnoe → eitriges Sputum/Veränderung Sputum/vermehrt Sekret <p>PLUS</p> <ul style="list-style-type: none"> - endobronchiale Läsion (z. B. Erythem, Ulzeration) 	wie bei 1
Radiologie	unauffällig	wie bei 1
Mikrobiologie	→ pos. Kultur Sputum/BAL	negativ
Histologie	positiv (Nachweis einer floriden Entzündung der Atemwege) ALLEIN	negativ

Bakterielle Kolonisation

Positive Mikrobiologie bei fehlenden klinischen Symptomen und radiologischen Zeichen.

2.2.5.1.2 Mykotische Infektion und Kolonisation

Die Pilzinfektion wurde eingeteilt in das Vorliegen einer *Pneumonie* bzw. *Tracheobronchitis/Anastomositis* und das Vorliegen einer reinen *Kolonisation* der Atemwege. Eine Infektion wurde als „bewiesen“ definiert, wenn die histologische Untersuchung einen positiven Nachweis erbrachte und als „wahrscheinlich“, wenn diese negativ blieb (Tabelle 4 und 5).

Pilzpneumonie

Tabelle 4: Definition einer Pilzpneumonie (bewiesen (1) und wahrscheinlich (2)). Bei einer bewiesenen Pilzpneumonie muss ein positiver histologischer Nachweis erbracht werden. Dieser kann entweder allein oder zusammen mit Symptomen, Radiologie und Mikrobiologie zur Diagnose führen. Bei einer wahrscheinlichen Pilzpneumonie sind Symptome, Radiologie und Mikrobiologie positiv, der histologische Nachweis negativ. Abkürzungen: CRP: C-reaktives Protein, BAL: bronchoalveoläre Lavage, PCR: Polymerase-Kettenreaktion

	Pneumonie, bewiesen (1)	Pneumonie, wahrscheinlich (2)
Symptome	<ul style="list-style-type: none"> - ≥ 1: → Fieber oder Hypothermie → Leukozytose oder –penie oder CRP-Erhöhung → eitriges Sputum/Veränderung Sputum/vermehrt Sekret → Husten/Dyspnoe/auffällige körperliche Untersuchung → Verschlechterung des Gasaustausches → Pleuraerguss 	wie bei 1
Radiologie	auffällig	wie bei 1
Mikrobiologie/ Zytologie	<ul style="list-style-type: none"> - ≥ 1: → pos. Kultur Blut/BAL → pos. PCR Blut/BAL → pos. Galaktomannan-Test BAL → pos. Pilznachweis in Zytologie 	wie bei 1
Histologie	positiv (parenchymale Invasion von Hyphen oder Pseudohyphen) ALLEIN oder mit Symptomen/Radiologie/ Mikrobiologie	negativ

Tracheobronchitis/Anastomositis durch Pilze

Tabelle 5: Definition einer Tracheobronchitis (bewiesen (1) und wahrscheinlich (2)) durch Pilze. Bei einer bewiesenen mykotischen Tracheobronchitis/Anastomositis muss ein positiver histologischer Nachweis erbracht werden. Dieser kann entweder allein oder zusammen mit Symptomen und Mikrobiologie zur Diagnose führen. Bei einer wahrscheinlichen mykotischen Tracheobronchitis/Anastomositis sind Symptome und Mikrobiologie positiv, der histologische Nachweis negativ. Abkürzungen: BAL: bronchoalveoläre Lavage, PCR: Polymerase-Kettenreaktion

	Tracheobronchitis/ Anastomositis, bewiesen (1)	Tracheobronchitis/ Anastomositis, wahrscheinlich (2)
Symptome	<ul style="list-style-type: none"> - ≥ 1: → Husten/Dyspnoe → eitriges Sputum/Veränderung Sputum/vermehrt Sekret <p>PLUS</p> <ul style="list-style-type: none"> - endobronchiale Läsion (z.B. Erythem, Ulzeration) 	wie bei 1
Radiologie	unauffällig	wie bei 1
Mikrobiologie/ Zytologie	<ul style="list-style-type: none"> - ≥ 1: → pos. Kultur BAL → pos. PCR BAL → pos. Galaktomannan-Test BAL → pos. Pilznachweis in Zytologie 	wie bei 1
Histologie	positiv (Nachweis einer floriden Entzündung der Atemwege) ALLEIN oder mit Symptomen/Mikrobiologie	negativ

Kolonisation durch Pilze

Positive Mikrobiologie oder Zytologie bei fehlenden klinischen Symptomen und radiologischen Zeichen.

2.2.5.1.3 Virale Infektion und asymptomatische Virusreplikation

Als *asymptomatische Virusreplikation* wurde ein positiver Virusnachweis aus der BAL bei gleichzeitigem Fehlen von klinischen Symptomen bzw. radiologischen Auffälligkeiten bezeichnet. Eine *symptomatische Virusinfektion* wurde angenommen, wenn klinische Symptome (z.B. Husten, Rhinitis) gemeinsam mit einem positiven Virusnachweis aus der BAL auftraten; die radiologische Untersuchung konnte dabei sowohl auffällig als auch unauffällig sein. Die CMV-Infektion bzw. Replikation wurde gesondert betrachtet. Unterschieden wurde hier die *asymptomatische CMV-Replikation* (Fehlen von klinischen Symptomen, unauffällige radiologische Bildgebung, positiver CMV-Nachweis aus der BAL) und die *symptomatische CMV-Pneumonitis*. Als *bewiesene CMV-Pneumonitis* galt

das Vorhandensein von klinischen Symptomen, eine auffällige radiologische Bildgebung und der histologische Nachweis von CMV im Lungengewebe (mit oder ohne positivem CMV-Nachweis in der BAL). Im Unterschied dazu wurde bei fehlendem histologischem CMV-Nachweis, aber positiver Viruslast in der BAL und sonst identer Konstellation die Infektion als *wahrscheinliche CMV-Pneumonitis* bezeichnet.

2.2.5.2 Akute zelluläre Abstoßung

Die Diagnose einer akuten zellulären Abstoßung wurde anhand der histologischen Beurteilung der transbronchialen Biopsien durch einen erfahrenen Pathologen des Instituts für Pathologie gestellt. Die Beurteilung der TBBs basierte dabei auf den Empfehlungen der *Working Formulation* der ISHLT aus dem Jahr 2006 für die ACR Grad A und aus den Jahren 1996 und 2006 für die ACR Grad B (148). Das Vorliegen einer ACR \geq A2, ACR \geq B2 bzw. B2R oder die Kombination A1/B1 wurde in dieser Studie als „therapierelevante akute zelluläre Abstoßung“ definiert.

2.2.5.2.1 ACR Grad A

Die akute Abstoßung Grad A ist durch das Auftreten perivaskulärer und interstitieller mononukleärer Zellinfiltrate gekennzeichnet. Die Intensität und Verteilung der Zellmanschette bilden die Grundlage für die Einteilung in die verschiedenen Schweregrade (148).

Die *ACR Grad A0* (keine akute Abstoßung) ist durch das Vorliegen von normalem Lungenparenchym ohne mononukleäre Zellinfiltrate gekennzeichnet (148, 212).

Die *ACR Grad A1* (minimale akute Abstoßung) zeichnet sich durch das Vorhandensein von aufgelockerten und vereinzelt mononukleären perivaskulären Infiltraten in alveolärem Lungenparenchym aus. Die Gefäße werden dabei in zwei bis drei Zelllagen zirkumferentiell von transformierten Lymphozyten umschlossen. Eosinophile und eine Endothelialitis fehlen *per definitionem* (148, 212).

Die *ACR Grad A2* (geringe akute Abstoßung) ist durch das Auftreten einer größeren Anzahl von perivaskulären mononukleären Infiltraten charakterisiert. Die Infiltrate bestehen hier aus transformierten Lymphozyten, Makrophagen und Eosinophilen. Ein zusätzliches Kennzeichen ist das Vorliegen einer lymphozytären Endothelialitis (148, 212).

Die *ACR Grad A3* (moderate akute Abstoßung) ist durch dichte perivaskuläre mononukleäre Infiltrate gekennzeichnet, die häufig mit einer Endothelialitis assoziiert sind. Neben Lymphozyten sind Eosinophile und Neutrophile in den Infiltraten üblich. Definiert wird dieser Grad durch die zusätzliche Ausbreitung der Infiltrate in peribronchioläre Septen und Alveolen, die mit einer intraalveolären Ansammlung von Makrophagen und einer Hyperplasie von Pneumozyten Typ 2 einhergehen kann (148, 212).

Die *ACR Grad A4* (schwere akute Abstoßung) zeichnet sich durch diffuse perivaskuläre, interstitielle und alveoläre mononukleäre Infiltrate aus, die mit einer ausgedehnten Schädigung von Pneumozyten sowie Nekrosen, Infarzierungen und Hämorrhagien einhergehen können (148, 212).

Die *ACR Grad AX* (nicht graduierbare akute Abstoßung) wird angegeben, wenn die Probe aufgrund von Artefakten, fehlenden Gefäßen oder gleichzeitigem Vorliegen einer Infektion nicht beurteilt werden kann (148, 212).

2.2.5.2.2 ACR Grad B

Die lymphozytäre Bronchiolitis ist definiert als das Vorhandensein mononukleärer Infiltrate in der Umgebung von Bronchiolen. Die LB kann ohne eine gleichzeitige Abstoßung der Blutgefäße auftreten, in diesen Fällen muss eine pulmonale Infektion ausgeschlossen werden. In der revidierten Fassung der *Working Formulation* der ISHLT von 2006 wird die LB in zwei Schweregrade eingeteilt, die Fassung von 1996 sah vier Schweregrade vor (148). Aus Gründen der Übersicht wird hier nur die aktuelle Fassung dargestellt.

Die *ACR Grad B0* (keine Atemwegsentzündung) ist durch das Vorliegen von normalem Lungenparenchym ohne mononukleäre Zellinfiltrate gekennzeichnet (148, 212).

Die *ACR Grad B1R* (geringgradige Atemwegsentzündung) zeichnet sich durch das Vorhandensein von aufgelockerten, vereinzelt oder zirkumferentiellen mononukleären Zellinfiltraten in der Submukosa von Bronchiolen aus. Zusätzlich können Eosinophile sichtbar sein. *Per definitionem* fehlen intraepitheliale Lymphozyten und eine Schädigung des respiratorischen Epithels. Die Einteilung beinhaltet die ehemalige Graduierung B1 und B2 (148, 212).

Die *ACR Grad B2R* (schwergradige Atemwegsentzündung) ist durch das Auftreten dichter mononukleärer Infiltrate, die durch eine größere Anzahl Eosinophiler begleitet wird, gekennzeichnet. Zudem finden sich intraepitheliale Lymphozyten und eine

Schädigung des respiratorischen Epithels sowie ggf. Nekrosen, Ulzerationen und eine Infiltration durch Neutrophile. Die Einteilung beinhaltet die ehemalige Graduierung B3 und B4 (148, 212).

Die *ACR Grad BX* (nicht graduierbare Atemwegsentszündung) wird angegeben, wenn die Probe aufgrund von Artefakten, fehlenden Bronchiolen oder gleichzeitigem Vorliegen einer Infektion nicht beurteilt werden kann (148, 212).

2.2.5.3 Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

Die Diagnose eines BOS wurde bei einem persistierenden Abfall der FEV₁ bzw. des FEF_{25-75 %}-Wertes, frühestens drei Monate nach Transplantation, und bei gleichzeitigem Ausschluss reversibler Ursachen gestellt. Dabei mussten zwei reproduzierbare Messungen im Abstand von drei Wochen und ohne die Anwendung eines Bronchodilatators vorliegen. Als Baseline diente der Durchschnitt der beiden am höchsten gemessenen FEV₁- bzw. FEF_{25-75 %}-Werte, ebenfalls im Abstand von drei Wochen und ohne die Anwendung eines Bronchodilatators. Die Definition basiert auf den internationalen Empfehlungen der ISHLT/ATS/*European Respiratory Society* (ERS) (182, 237).

Das BOS wird in drei Schweregrade (BOS Stadium 1-3), basierend auf der Höhe des FEV₁-Abfalls, eingeteilt. Lungentransplantierte Patienten mit stabilen FEV₁-Werten befinden sich per Definition im BOS Stadium 0. Zudem wurde 2002 der Begriff „potentielles BOS“ oder BOS Stadium 0-p eingeführt (Tabelle 6) (182, 237).

Tabelle 6: Schweregradeinteilung des Bronchiolitis-Obliterans-Syndroms. Die Einteilung erfolgt anhand der Verschlechterung des FEV₁- bzw. FEF_{25-75 %}-Wertes ausgehend vom Baselinewert. Abkürzungen: BOS: Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom, FEV₁: (expiratorische) Einsekundenkapazität, FEF_{25-75 %}: mittlere maximale expiratorische Atemstromstärke zwischen 25 und 75 % der forcierten Vitalkapazität

BOS Stadium	FEV ₁ bzw. FEF _{25-75 %} in Prozent vom Baselinewert
0	FEV ₁ > 90 % und FEF _{25-75 %} > 75 %
0-p	FEV ₁ 81–90 % und/oder FEF _{25-75 %} ≤ 75 %
1	FEV ₁ 66–80 %
2	FEV ₁ 51–65 %
3	FEV ₁ ≤ 50 %

Histologisches Kennzeichen des BOS ist die obliterative Bronchiolitis, welche sich durch eine Vermehrung des eosinophilen Bindegewebes der Submukosa von Bronchiolen auszeichnet. Diese kann mit einer Destruktion der glatten Muskulatur der Lamina elastica einhergehen. Nach Empfehlungen der ISHLT wird die BO histopathologisch in C0 (keine BO) und C1 (Nachweis von BO) eingeteilt. Aufgrund des fokalen Vorkommens der BO und der damit einhergehenden geringen Sensitivität der transbronchialen Biopsie, wird die Diagnose BOS aktuell ausschließlich anhand des funktionellen Abfalls der Parameter FEV₁ bzw. FEF₂₅₋₇₅ % gestellt (148).

2.2.6 Statistische Analyse

Statistische Berechnungen wurden mit SigmaStat 4.0 (Systat Software, San Jose, Kalifornien (USA)) durchgeführt. Die Anfertigung der Graphen sowie die Erstellung der Überlebenskurve nach Kaplan-Meier erfolgte mit GraphPad Prism® 5.01 (Graphpad Software, San Diego, Kalifornien (USA)).

Die Auswertung der infektions-assoziierten Risikofaktoren bei Vorliegen einer akuten zellulären Abstoßung erfolgte mittels Chi-Quadrat-Test. Für die Datenanalyse des Zell- und Zytokinmusters der bronchoalveolären Lavage wurde jedes Ergebnis der TBB und BAL als unabhängige Variable betrachtet, damit eine statistische Komparation möglich wurde. Beim Vergleich zweier Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test angewandt. Bei drei oder mehr Gruppen (z.B. Vergleich von Gruppen mit zunehmendem Schweregrad der Abstoßung) erfolgte die Varianzanalyse mittels Kruskal-Wallis-Test. Eine statistische Signifikanz wurde bei Werten $< 0,05$ angenommen ($p < 0,05$: *, $p < 0,01$: **, $p < 0,001$: ***).

Die in Text, Tabellen und Abbildungen dargestellten Werte werden entweder als Absolutwerte oder als Median mit Interquartilsabstand und ggf. Minimum und Maximum angegeben.

3. Ergebnisse

In die Studie wurden 89 lungentransplantierte Patienten eingeschlossen. Transplantationsrelevante Daten zur Beschreibung des Patientenkollektivs (inklusive Ergebnisse der Bronchoskopie mit Dokumentation von akuter zellulärer Abstoßung und Infektion) wurden zwischen Februar 2013 und September 2017 erfasst. Die ergänzende Untersuchung von Zytokinen aus der BAL erfolgte von März 2015 bis September 2017.

Es wurden sowohl Patienten eingeschlossen, deren Transplantationszeitpunkt bereits länger zurück lag, als auch Patienten, die unmittelbar um den Untersuchungszeitpunkt transplantiert wurden, wobei die Mehrzahl der Patienten in den Jahren 2013 bis 2016 eine Transplantation erhielten (Abbildung 3).

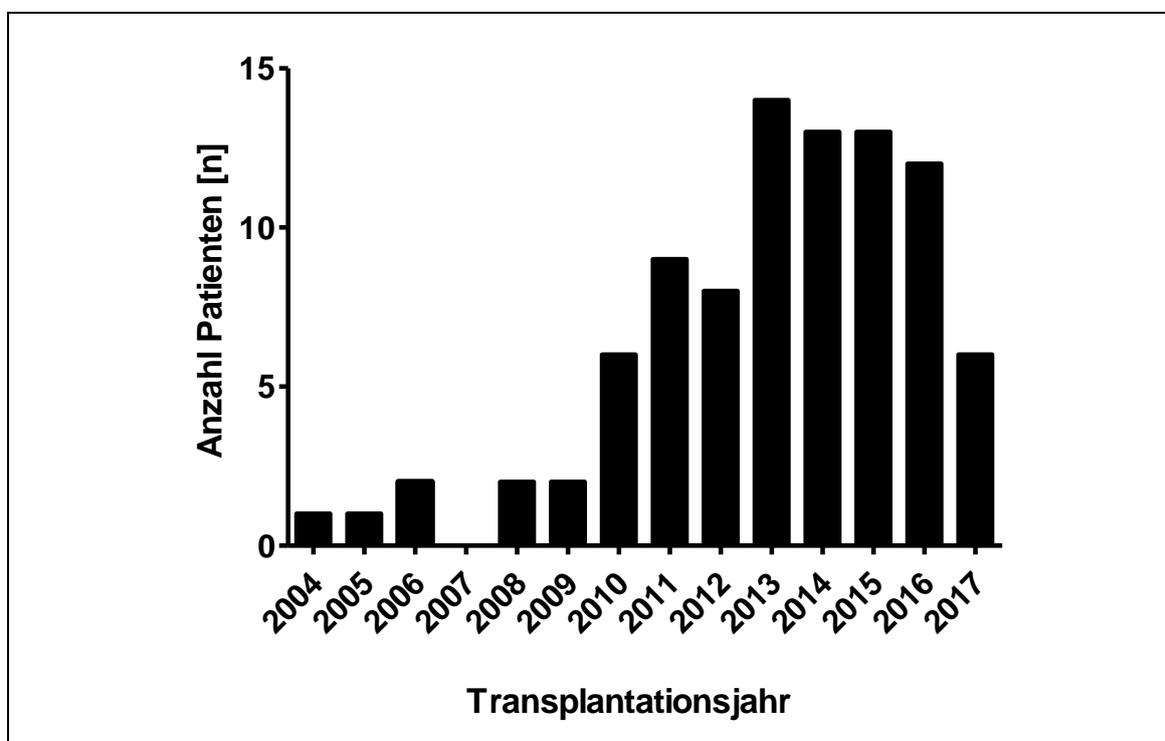


Abbildung 3: Anzahl der Transplantierten pro Transplantationsjahr. Dargestellt sind die Jahre 2004-2017 und die jeweilige Anzahl der (an der Studie teilnehmenden) lungentransplantierten Patienten (2004: 1, 2005: 1, 2006: 2, 2007: 0, 2008: 2, 2009: 2, 2010: 6, 2011: 9, 2012: 8, 2013: 14, 2014: 13, 2015: 13, 2016: 12, 2017: 6). Abkürzungen: n: Anzahl der Patienten

78 Patienten wurden am UKGM Gießen transplantiert, weitere sieben Patienten in der Kerckhoff-Klinik Bad Nauheim, davon vier mit ILD und drei mit PAH. Zwei Patienten wurden am Universitätsklinikum Mainz (COPD und CF) transplantiert sowie jeweils ein weiterer Patient am Universitätsklinikum Frankfurt (CF) und an der Medizinischen Hochschule Hannover (ILD).

Bei den 89 Patienten wurden in oben genanntem Untersuchungszeitraum insgesamt 450 Bronchoskopien durchgeführt, bei 438 Untersuchungen waren transbronchiale Biopsien verfügbar, bei etwa 200 Untersuchungen wurde zudem die Konzentration an Zytokinen (IL-1 β (n = 206), IL-8 (n = 207), IL-10 (n = 208), IL-17 (n = 208) und MIP-1 α (n = 209)) erfasst. Bei zwölf Bronchoskopien wurde aufgrund einer schweren pulmonalen Leistungseinschränkung unterschiedlicher Ursache auf eine TBB verzichtet. Vier Untersuchungen (drei mit TBB und eine ohne TBB) wurden für die weitere Beurteilung der Parameter ausgeschlossen, da bei den Patienten zum Untersuchungszeitpunkt eine COP vorlag. Insgesamt standen also 435 Bronchoskopien mit TBB und elf Bronchoskopien ohne TBB für die Datenauswertung zu Verfügung (Abbildung 4).

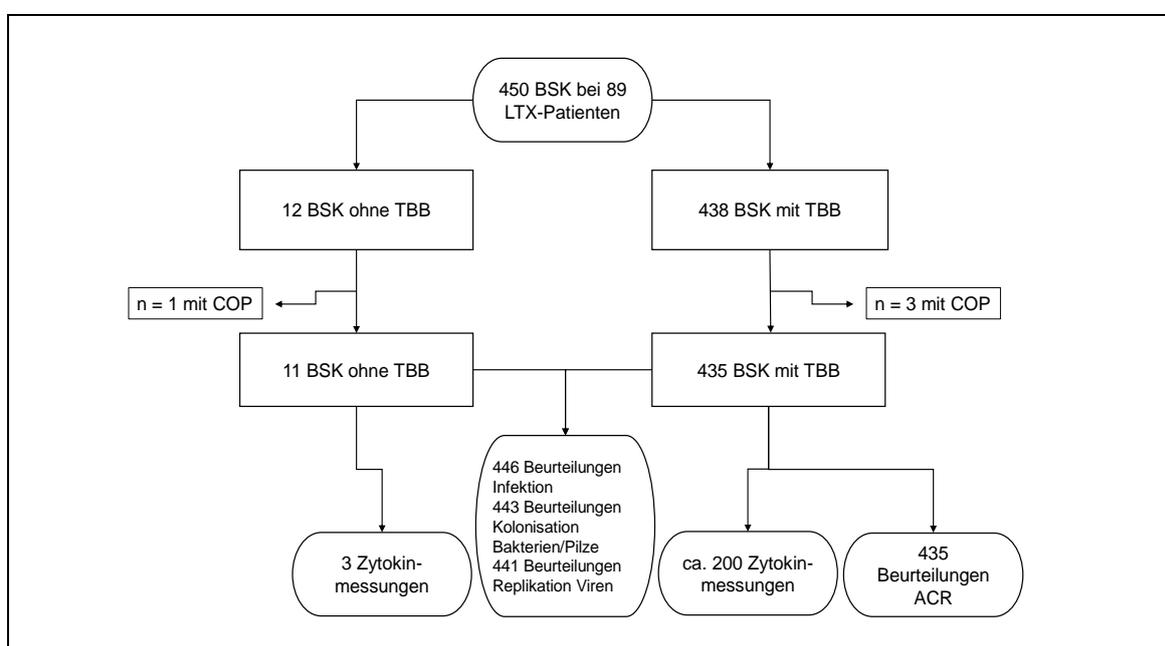


Abbildung 4: Übersicht über das Studiendesign. Bei 89 lungentransplantierten Patienten wurden insgesamt 450 Bronchoskopien, davon 438 mit und zwölf ohne TBB, durchgeführt. Vier Bronchoskopien mit zum Untersuchungszeitpunkt nachgewiesener COP wurden aus der Studie ausgeschlossen. Zur Erfassung einer akuten zellulären Abstoßung standen somit 435 Untersuchungen, zur Erfassung einer Infektion/Kolonisation/Replikation 446 Untersuchungen zur Verfügung. Abkürzungen: BSK: Bronchoskopie, LTX: Lungentransplantation, TBB: transbronchiale Biopsie, COP: kryptogen organisierende Pneumonie, n: Anzahl der Untersuchungen

3.1 Demographie

3.1.1 Transplantationsindikation

Die mit Abstand häufigste Transplantationsindikation war die Gruppe der interstitiellen Lungenerkrankungen mit 57,3% (n = 51). Zweithäufigste Indikation war die COPD mit oder ohne begleitendes Lungenemphysem mit 20,2% (n = 18), gefolgt von CF mit 13,4% (n = 12). Weniger häufige Indikationen waren PAH und seltene

Lungenerkrankungen mit jeweils 3,4 % (jeweils $n = 3$) sowie Alpha-1-Antitrypsin-Mangel mit 2,3 % ($n = 2$). Zu den seltenen Lungenerkrankungen wurden die pulmonale Histozytosis X ($n = 1$) und die Lymphangioliomyomatose ($n = 2$) gezählt.

3.1.2 Transplantationsverfahren

Von den 89 untersuchten Patienten erhielten 6,7 % ($n = 6$) eine Einzellungentransplantation (*single lung transplantation*, SLTX) und 93,3 % ($n = 83$) eine Doppellungentransplantation (*double lung transplantation*, DLTX). Bezogen auf das Transplantationsverfahren war die häufigste Indikation für eine SLTX die COPD mit 83,3 % ($n = 5$); nur ein weiterer Patient mit interstitieller Lungenerkrankung erhielt überdies eine Einzellunge (16,7 %). Die häufigste Indikation für eine DLTX war die ILD mit 60,2 % ($n = 50$), gefolgt von COPD mit 15,7 % ($n = 13$), CF mit 14,5 % ($n = 12$), PAH mit 3,6 % ($n = 3$), seltenen Lungenerkrankungen mit 3,6 % ($n = 3$) und Alpha-1-Antitrypsin-Mangel mit 2,4 % ($n = 2$). Im Umkehrschluss erhielten alle Patienten mit CF, PAH, seltener Lungenerkrankung und Alpha-1-Antitrypsin-Mangel sowie 98 % aller Patienten mit interstitieller Lungenerkrankung eine DLTX. Bei Patienten mit COPD erhielten 27,8 % ($n = 5$) eine SLTX und 72,2 % ($n = 13$) eine DLTX (Abbildung 5).

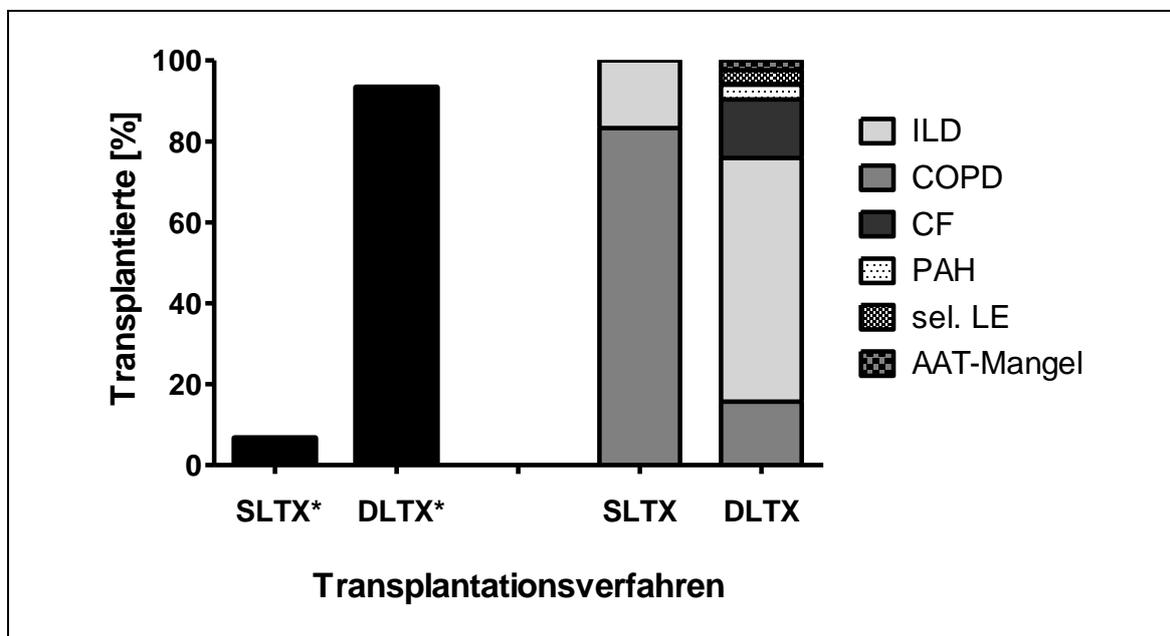


Abbildung 5: Transplantationsverfahren bezogen auf alle transplantierten Studienteilnehmer. Auf der linken Seite ist die Gesamtverteilung der Einzel- bzw. Doppellungentransplantationen der Kohorte dargestellt (SLTX* bzw. DLTX*). Auf der rechten Seite ist der Anteil der zugrundeliegenden Lungenerkrankung am jeweiligen Transplantationsverfahren gezeigt (SLTX bzw. DLTX). Abkürzungen: SLTX: Einzellungentransplantation, DLTX: Doppellungentransplantation, ILD: interstitielle Lungenerkrankung, COPD: chronisch obstruktive Lungenerkrankung, CF: zystische Fibrose, PAH: pulmonal-arterielle Hypertonie, sel. LE: seltene Lungenerkrankungen, AAT-Mangel: Alpha-1-Antitrypsin-Mangel

3.1.3 Geschlechtsverteilung

Die Geschlechtsverteilung der Transplantierten war ausgeglichen, es wurden 48,3% (n = 43) männliche Patienten und 51,7% (n = 46) weibliche Patientinnen transplantiert. Die häufigste Transplantationsindikation bei männlichen Patienten war die interstitielle Lungenerkrankung mit 69,7% (n = 30), gefolgt von einem gleichen Anteil an Patienten mit COPD und CF von jeweils 14% (jeweils n = 6) sowie einem Patienten mit seltener Lungenerkrankungen (2,3% (n = 1)). In den Indikationsgruppen PAH und Alpha-1-Antitrypsin-Mangel wurde kein männlicher Patient transplantiert. Bei den Frauen war die interstitielle Lungenerkrankung ebenfalls häufigste Transplantationsindikation mit 45,6% (n = 21). In absteigender Reihenfolge folgten COPD mit 26,1% (n = 12), CF mit 13% (n = 6), PAH mit 6,5% (n = 3) sowie seltene Lungenerkrankungen und Alpha-1-Antitrypsin-Mangel mit jeweils 4,4% (jeweils n = 2). In den Indikationsgruppen PAH und Alpha-1-Antitrypsin-Mangel wurden nur Frauen transplantiert (Tabelle 7).

Tabelle 7: Transplantationsindikation bezogen auf das Geschlecht. Dargestellt ist der prozentuale Anteil der Lungenerkrankung, die zur Lungentransplantation geführt hat, bezogen auf alle männlichen bzw. weiblichen Transplantierten der Studie. Abkürzungen: ILD: interstitielle Lungenerkrankung, COPD: chronisch obstruktive Lungenerkrankung, CF: zystische Fibrose, PAH: pulmonal-arterielle Hypertonie, sel. LE: seltene Lungenerkrankungen, AAT-Mangel: Alpha-1-Antitrypsin-Mangel

	ILD (%)	COPD (%)	CF (%)	PAH (%)	sel. LE (%)	AAT (%)
Mann	69,7	14,0	14,0	0,0	2,3	0,0
Frau	45,6	26,1	13,0	6,5	4,4	4,4

Bezogen auf das Transplantationsverfahren erhielten Patienten beiderlei Geschlechts mit über 90% weitaus häufiger eine DLTX als eine SLTX. Die SLTX wurde mit 66,7% (n = 4) etwas häufiger bei Männern als bei Frauen (33,3% (n = 2)) durchgeführt.

3.1.4 Transplantationsalter

Das mediane Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Transplantation betrug 57 (50 – 61) Jahre. Der jüngste Patient war 19 Jahre, der älteste Patient 70 Jahre alt. Das mit Abstand häufigste Transplantationsalter lag zwischen 50 und 69 Jahren mit einem Anteil von 74,2% (n = 66), davon entfielen 41,6% (n = 37) auf die Altersgruppe 50-59 Jahre und 32,6% (n = 29) auf die Altersgruppe 60-69 Jahre. Annähernd gleiche Häufigkeiten waren im Transplantationsalter 20-29 Jahre (6,7%, n = 6), 30-39 Jahre (7,9%, n = 7) und 40-

49 Jahre (9,0%, n = 8) zu verzeichnen. Lediglich 2,2% aller Patienten wurden im Alter unter 20 bzw. über 70 Jahre (jeweils n = 1) transplantiert (Abbildung 6).

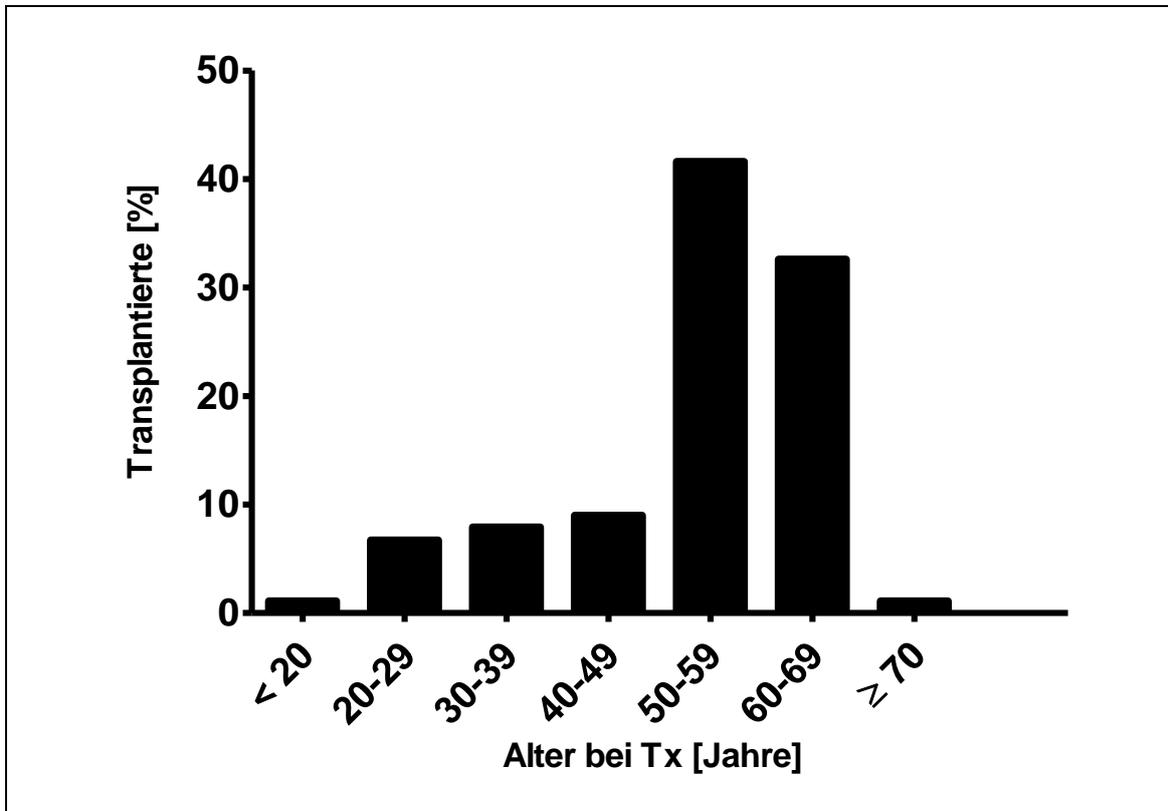


Abbildung 6: Durchschnittliches Alter bei Transplantation in Prozent aller Transplantierten. Durch die Grafik wird der hohe Anteil an Transplantierten im Alter zwischen 50-59 bzw. 60-69 Jahre, der relativ konstante Anteil an Transplantierten im Alter zwischen 20-29, 30-39 und 40-49 Jahre und der geringe Anteil von Transplantierten unter 20 bzw. über 70 Jahre deutlich. Abkürzungen: Tx: Transplantation

Bezogen auf das Alter bei Transplantation war in der Gruppe 20-29 und 30-39 Jahre die mit Abstand häufigste Indikation zur Transplantation die CF mit 57,1% (n = 4) respektive 85,7% (n = 6). Bei den über 40-jährigen war in jeder Altersgruppe die interstitielle Lungenerkrankung führende Transplantationsindikation. Während 91,7% (n = 11) der CF-Patienten, 100% (n = 3) der PAH-Patienten und 66,7% (n = 2) der Patienten mit seltenen Lungenerkrankungen unterhalb des 50. Lebensjahres transplantiert wurden, waren Patienten mit COPD und Alpha-1-Antitrypsin-Mangel in dieser Altersgruppe gar nicht vertreten. Patienten mit COPD wurden zu 55,6% (n = 10) in der Gruppe 50-59 Jahre und zu 44,4% (n = 8) in der Gruppe 60-69 Jahre, Patienten mit AAT-Mangel zu je 50% (jeweils n = 1) in der Gruppe 50-59 bzw. 60-69 Jahre transplantiert (Abbildung 7).

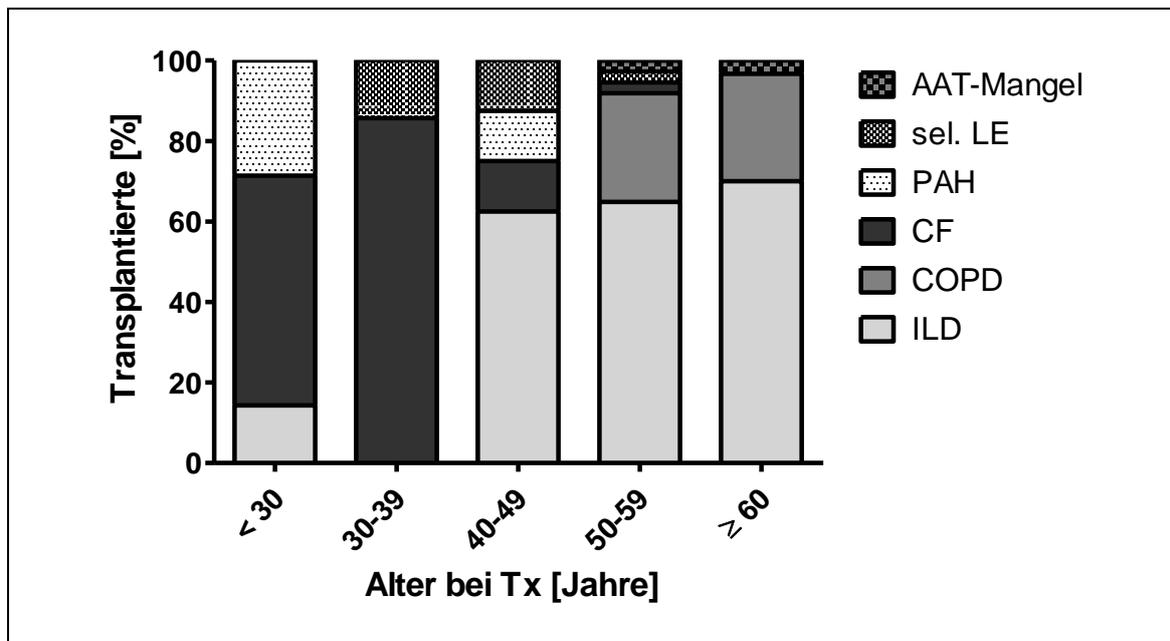


Abbildung 7: Transplantationsindikation bezogen auf das Alter bei Transplantation in Prozent aller Transplantierten. Bei den Transplantierten der Studie war unterhalb des 40. Lebensjahres die CF häufigste Transplantationsindikation, wohingegen oberhalb des 40. Lebensjahres die ILD häufigste Transplantationsindikation war. Alle Patienten mit COPD und AAT-Mangel waren zum Transplantationszeitpunkt 50 Jahre und älter. Abkürzungen: AAT-Mangel: Alpha-1-Antitrypsin-Mangel, sel. LE: seltene Lungenerkrankungen, PAH: pulmonal-arterielle Hypertonie, CF: zystische Fibrose, COPD: chronisch obstruktive Lungenerkrankung, ILD: interstitielle Lungenerkrankung, Tx: Transplantation

98,3% (n = 58) der Patienten unterhalb des 60. Lebensjahres erhielten eine DLTX, wohingegen nur ein Patient (Alter bei Transplantation 59 Jahre) eine SLTX erhielt. Die SLTX wurde zu 83,3% (n = 5) oberhalb des 60. Lebensjahres durchgeführt.

3.1.5 CMV-Status

Der CMV-Donorstatus konnte bei insgesamt 88 Patienten ermittelt werden. 55,7% (n = 49) der Spender waren zum Transplantationszeitpunkt CMV negativ (D-), 44,3% (n = 39) CMV positiv (D+). Der CMV-Empfängerstatus konnte bei 87 Patienten ermittelt werden. 29,9% (n = 26) der Empfänger waren zum Transplantationszeitpunkt CMV negativ (R-), 70,1% (n = 61) CMV positiv (R+). Daraus ergaben sich folgende Verteilungen für die Donor-/Empfänger-CMV-Konstellation: D-/R- 17,2% (n = 15), D-/R+ 37,9% (n = 33), D+/R+ 32,2% (n = 28), D+/R- 12,7% (n = 11) (Tabelle 8).

Tabelle 8: CMV-Status von Spender (D) und Empfänger (R) sowie CMV-Konstellation. Dargestellt ist in tabellarischer Ansicht der CMV-Status von Donor und Empfänger in Prozent sowie in Anzahl der Patienten. Als niedrig-Risiko-Gruppe (wenig CMV-Erkrankungen, längeres Überleben) gilt die Konstellation aus D-/R- (hellgrau hinterlegt), als intermediär-Risiko-Gruppe die Konstellation D-/R+ und D+/R+ (grau hinterlegt) und als hoch-Risiko-Gruppe die Konstellation D+/R- (schwarz hinterlegt). Der Großteil der Studienpatienten war vor Transplantation CMV-positiv, so dass mit 70,1 % die intermediär-Risiko-Gruppe am häufigsten vertreten war. Abkürzungen: D-: Donor CMV-negativ, D+: Donor CMV-positiv, R-: Empfänger CMV-negativ, R+: Empfänger CMV-positiv, n: Anzahl der Patienten

		D-	D+
		55,7 % (n = 49)	44,3 % (n = 39)
R-	29,9 % (n = 26)	17,2 % (n = 15)	12,7 % (n = 11)
R+	70,1 % (n = 61)	37,9 % (n = 33)	32,2 % (n = 28)

3.2 Infektion und Kolonisation

3.2.1 Bakterielle Infektion und Kolonisation der Atemwege

Unabhängig davon, ob zum Untersuchungszeitpunkt eine Infektion oder Kolonisation der Atemwege vorlag, wurde bei 65,5% (n = 290) der Untersuchungen kein Erreger nachgewiesen, während bei 34,5% (n = 153) der Untersuchungen ein Erreger isoliert werden konnte. Hiervon lagen in 56,2% (n = 86) der Fälle grampositive Keime, in 31,4% (n = 48) der Fälle gramnegative Keime und in 12,4% (n = 19) der Fälle sowohl grampositive als auch -negative Keime vor. Zu drei Untersuchungszeitpunkten konnte eine Kolonisation der Atemwege aufgrund fehlender Mikrobiologie nicht beurteilt werden (Abbildung 8).

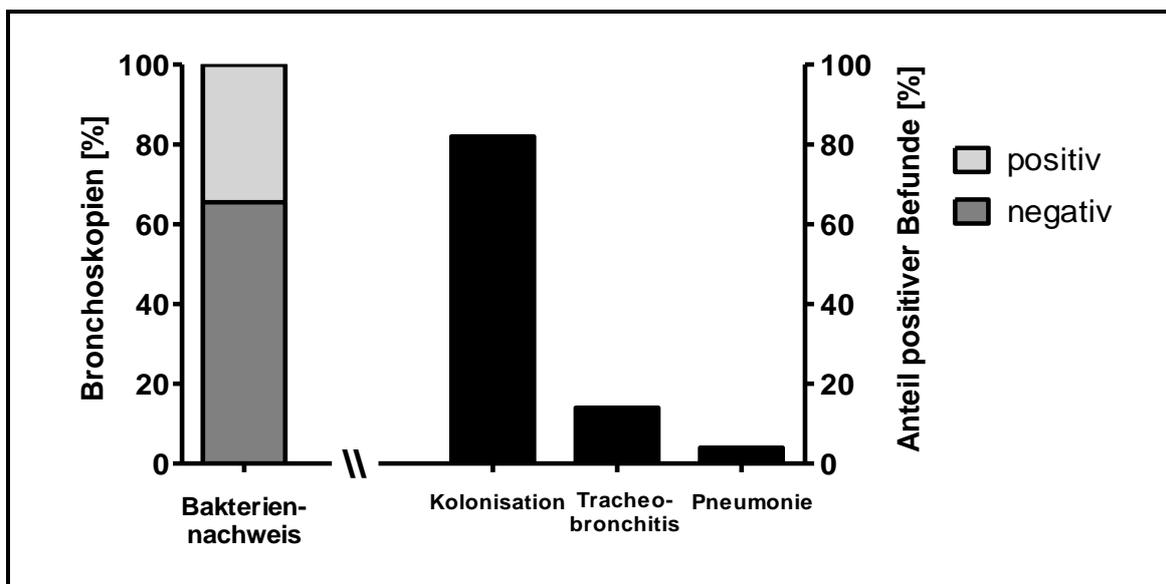


Abbildung 8: Bakteriennachweis bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien (links), Anteil von bakterieller Kolonisation, Tracheobronchitis und Pneumonie bei positivem Bakteriennachweis (rechts). In der Abbildung ist ersichtlich, dass bei etwa 1/3 aller Bronchoskopien ein Bakterium isoliert wurde. In den Fällen einer Bakterienisolation lag in 82,4 % (n = 126) der Fälle eine Kolonisation, in 13,7 % (n = 21) der Fälle eine Tracheobronchitis und in 3,9 % (n = 6) der Fälle eine Pneumonie vor.

Eine bakterielle Pneumonie lag bei 3,8% (n = 17) der Untersuchungszeitpunkte vor, hiervon 1,3% (n = 6) mit Erregernachweis und 2,5% (n = 11) ohne Erregernachweis. Eine bakterielle Tracheobronchitis lag in 13,0% (n = 58) der Fälle vor, hiervon wiederum 4,7% (n = 21) mit und 8,3% (n = 37) ohne Keimnachweis (Abbildung 8). Das Erregerspektrum umfasste grampositive und gramnegative Bakterien, wobei gramnegative mit 55,6% (n = 15) am häufigsten nachweisbar waren. In 37,0% (n = 10) der Fälle waren grampositive Bakterien Auslöser einer Infektion, in 7,4% (n = 2) der Fälle lag eine Mischinfektion durch grampositive und -negative Bakterien vor (Abbildung 9). *Pseudomonas aeruginosa* wurde am häufigsten (27%) detektiert und war somit für den Großteil der bakteriellen Pneumonien bzw. Tracheobronchitiden verantwortlich. Andere Erreger waren *Streptococcus spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Proteus*, *Neisseria spp.*, *E.coli* und *Klebsiella spp.* in absteigender Reihenfolge.

Zu 28,4% (n = 126) der Untersuchungszeitpunkte lag eine Kolonisation der Atemwege der Patienten durch einen bestimmten Erreger vor. Die Definition einer Kolonisation beinhaltete den Ausschluss einer gleichzeitig vorliegenden Pneumonie oder Tracheobronchitis. Die Atemwege wurden in 60,3% (n = 76) der Fälle von grampositiven, in 26,2% (n = 33) der Fälle von gramnegativen und in 13,5% (n = 17) der Fälle von grampositiven und -negativen Bakterien besiedelt (Abbildung 9). Die am häufigsten isolierten grampositiven Erreger waren *Streptococcus spp.*, gefolgt von

Staphylococcus spp. und *Enterococcus spp.*; die am häufigsten isolierten gramnegativen Erreger waren *Pseudomonas aeruginosa*, *Neisseria spp.* und *E. coli*.

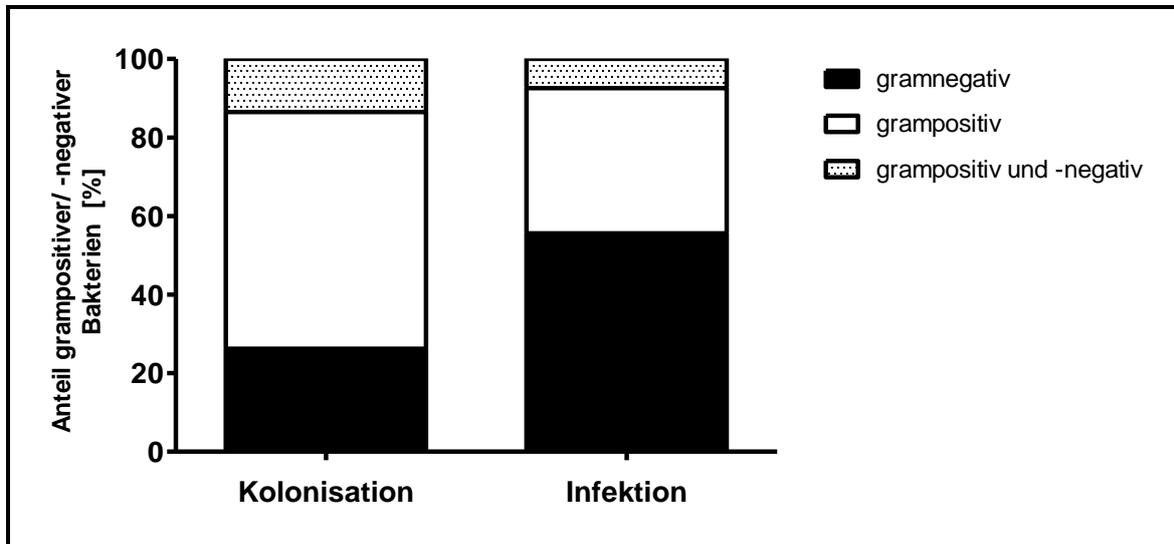


Abbildung 9: Anteil grampositiver bzw. -negativer Bakterien in Bezug auf die Gesamtzahl aller isolierten Bakterien bei einer Kolonisation und Infektion der Atemwege. Bei einer Kolonisation überwogen grampositive Keime, bei einer Infektion gramnegative Keime. Die dargestellte Infektion beinhaltet die bakterielle Pneumonie und Tracheobronchitis. Das Erregerspektrum umfasste bei der Kolonisation zu 60,3 % (n = 76) grampositive, zu 26,2 % (n = 33) gramnegative und zu 13,5 % (n = 17) beide Bakterienarten, bei der Infektion zu 37,0 % (n = 10) grampositive, zu 55,6 % (n = 15) gramnegative und zu 7,4 % (n = 2) beide Bakterienspezies.

3.2.2 Mykotische Infektion und Kolonisation der Atemwege

Insgesamt konnten bei 13,3% (n = 59) der bronchoskopischen Untersuchungen eine Pilzspezies isoliert werden. Mit 62,7% (n = 37) wurden *Candida spp.* am häufigsten nachgewiesen, danach folgten *Aspergillus spp.* mit 28,8% (n = 17) bzw. beide Spezies gemeinsam mit 5,1% (n = 3). Nur 3,4% (n = 2) wurden durch seltenere Keime, *Neurospora crassa* und *Trichosporon inkin*, repräsentiert. Zu drei Untersuchungszeitpunkten konnte eine Kolonisation der Atemwege aufgrund fehlender Mikrobiologie nicht beurteilt werden (Abbildung 10).

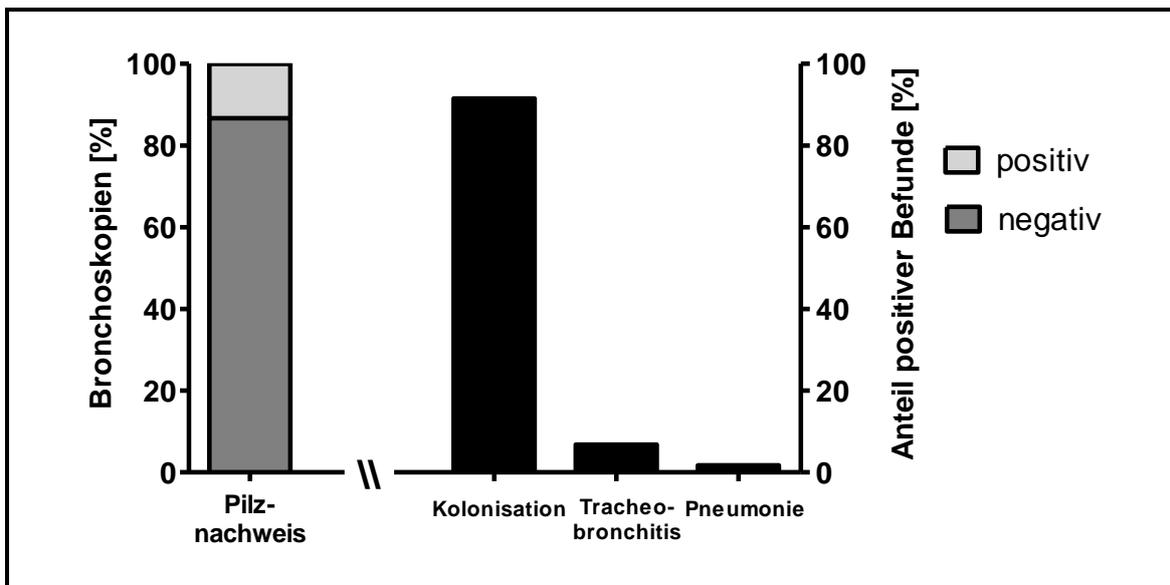


Abbildung 10: Pilznachweis bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien (links), Anteil von mykotischer Kolonisation, Tracheobronchitis und Pneumonie bei positivem Pilznachweis (rechts). In der Abbildung ist ersichtlich, dass bei 13,3 % aller Bronchoskopien eine Pilzspezies isoliert wurde. In den Fällen eines Pilznachweises lag in 91,5 % (n = 54) der Fälle eine Kolonisation, in 6,8 % (n = 4) der Fälle eine Tracheobronchitis und in 1,7 % (n = 1) der Fälle eine Pneumonie vor.

Eine Pilzpneumonie lag bei einer der bronchoskopischen Untersuchungen vor. Ein histologischer Nachweis konnte in diesem Fall nicht erbracht werden, da transbronchiale Biopsien aufgrund der Einzellungentransplantation, einhergehend mit einer schweren respiratorischen Insuffizienz aufgrund einer Pneumonie, nicht entnommen wurden. Der Erreger war *Trichosporon inkin*, welcher bei immunsupprimierten Patienten opportunistische Infektionen auslösen kann. Eine durch Pilze ausgelöste Tracheobronchitis lag bei 0,9 % (n = 4) der Untersuchungen vor, Erreger waren in allen Fällen *Aspergillus spp.* (Abbildung 10 und 11).

Zu 12,2 % (n = 54) der Untersuchungszeitpunkte lag eine Atemwegskolonisation der Patienten durch Pilze vor. Die Definition einer Kolonisation beinhaltete den Ausschluss einer gleichzeitig vorliegenden Pneumonie oder Tracheobronchitis. In 68,5 % (n = 37) der Fälle handelte es sich um eine Atemwegskolonisation durch *Candida spp.*, in 24,1 % (n = 13) der Fälle durch *Aspergillus spp.* und in 5,5 % (n = 3) der Fälle um eine Kolonisation durch beide Spezies. Bei einer Untersuchung (1,9%) wurde *Neurospora crassa*, ein Schimmelpilz, isoliert (Abbildung 11).

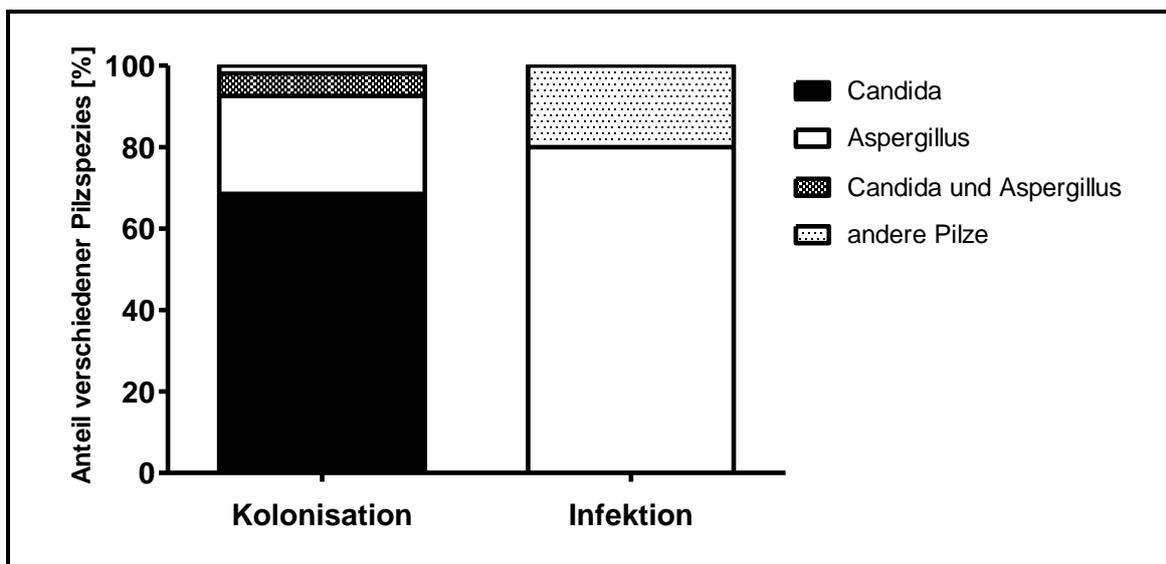


Abbildung 11: Anteil verschiedener Pilzspezies in Bezug auf die Gesamtzahl aller isolierten Pilze bei einer Kolonisation und Infektion der Atemwege. Bei einer Kolonisation überwogen *Candida spp.*, bei einer Infektion *Aspergillus spp.*. Die dargestellte Infektion beinhaltet die mykotische Pneumonie und Tracheobronchitis. Das Erregerspektrum umfasste bei der Kolonisation zu 68,5 % (n = 37) *Candida spp.*, zu 24,1 % (n = 13) *Aspergillus spp.*, zu 5,5 % (n = 3) beide Spezies und zu 1,9 % (n = 1) *Neurospora crassa*, bei der Infektion zu 80,0 % (n = 4) *Aspergillus spp.* und zu 20 % (n = 1) *Trichosporon inkin*.

3.2.3 Virale Infektion und Replikation der Atemwege

Ein positiver Virusnachweis wurde bei 16,1% (n = 71) der bronchoskopischen Untersuchungen erbracht. Hierbei handelte es sich in 91,5% (n = 65) der Fälle um den Nachweis eines einzelnen Virus, wohingegen in 8,5% (n = 6) der Fälle mehrere Viren gleichzeitig nachgewiesen wurden. Häufigstes Virusisolat waren respiratorische Viren, gefolgt von EBV, CMV und HSV/VZV (8,4% (n = 37) / 4,8% (n = 21) / 2,7% (n = 12) / 2,0% (n = 9)) (Abbildung 12). Bei den respiratorischen Viren wurden in den meisten Proben Entero-/Rhinoviren (n = 17) nachgewiesen. Zu fünf Untersuchungszeitpunkten konnte eine asymptomatische Virusreplikation aufgrund fehlender Virologie nicht beurteilt werden.

Eine symptomatische virale Infektion lag zum Zeitpunkt der Bronchoskopie bei 3,1% (n = 14) der Untersuchungen vor. In allen Fällen bis auf einen handelte es sich um eine Infektion mit respiratorischen Viren. Am häufigsten wurden Influenza- bzw. Parainfluenzaviren isoliert. In dem anderen Fall wurde EBV nachgewiesen. Der Patient litt unter einer Posttransplantations-Lymphoproliferativen Erkrankung (*post-transplant lymphoproliferative disorder*, PTLD), welche histologisch durch den Nachweis von EBV-positiven Lymphozyten bestätigt wurde.

Ein asymptomatischer Virusnachweis gelang in 11,1 % (n = 49) der Fälle, in sechs Fällen wurden simultan mehrere Viren isoliert. EBV wurde mit Abstand am häufigsten nachgewiesen.

Die Diagnose einer CMV-Pneumonitis wurde bei 0,4 % (n = 2) der Untersuchungen gestellt. Daneben lag bei 2,3 % (n = 10) der Bronchoskopien eine reine CMV-Replikation ohne gleichzeitigen Nachweis klinischer Symptome oder radiologischer Auffälligkeiten vor. Bei vier der zehn CMV-Replikationsfälle wurden simultan weitere Viren nachgewiesen.

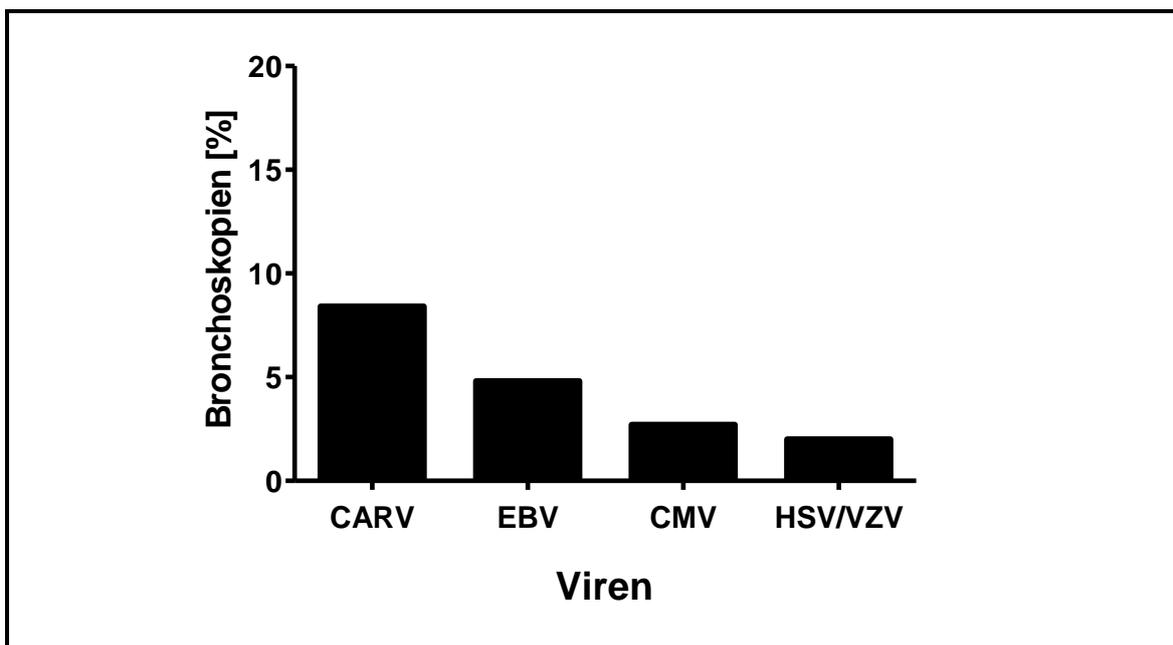


Abbildung 12: Virusnachweis bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien. Respiratorische Viren wurden bei 8,4 % (n = 37) der Untersuchungen und damit am häufigsten nachgewiesen. In absteigender Häufigkeit folgten EBV mit 4,8 % (n = 21), CMV mit 2,7 % (n = 12) und HSV/VZV mit 2,0 % (n = 9). Abkürzungen: CARV: community-acquired respiratory virus (respiratorische Viren), EBV: Epstein-Barr-Virus, CMV: Cytomegalievirus, HSV/VZV: Herpes-Simplex-Virus/Varizella-Zoster-Virus

3.3 Akute zelluläre Abstoßung

Den Nachweis bzw. Ausschluss einer ACR erbrachte die histopathologische Beurteilung der transbronchialen Biopsien. Bei insgesamt 438 von 450 Bronchoskopien wurde eine TBB entnommen. Nach Ausschluss von drei Untersuchungen (wegen zum Bronchoskopiezeitpunkt vorliegender COP) lagen somit für die Beurteilung einer akuten zellulären Abstoßung 435 TBBs vor. Von den 435 TBBs konnten 6,9 % (n = 30) Grad A-Abstoßungen („AX“) und 0,5 % (n = 2) Grad B-Abstoßungen („BX“) nicht beurteilt werden.

In dem Untersuchungszeitraum wurden 39,5 % (n = 172) A1, 2,5 % (n = 11) A2, 0,7 % (n = 3) A3 Abstoßungen und keine A4 Abstoßung nachgewiesen. In 50,4 % (n = 219) der Fälle lag keine Grad A-Abstoßung („A0“) vor. Bezugnehmend auf die Einteilung der ACR Grad B nach ISHLT 1996 wurden 34,7 % (n = 151) B1, 3,9 % (n = 17) B2, 1,6 % (n = 7) B3 und 0,2 % (n = 1) B4 Abstoßungen nachgewiesen. In 59,1 % (n = 257) der Fälle lag keine Grad B-Abstoßung („B0“) vor. In Anlehnung an die Einteilung der ACR Grad B nach ISHLT 2006 konnte der Nachweis von 37,9 % (n = 165) B1R und 1,8 % (n = 8) B2R Abstoßungen erbracht werden (Abbildung 13). Bei 0,7 % (n = 3) der Fälle wurde trotz B1 Abstoßung (ISHLT 1996) keine Beurteilung nach ISHLT 2006 vorgenommen. Davon abgesehen wurden alle B1 und B2 Abstoßungen (ISHLT 1996) als B1R (ISHLT 2006) bewertet und alle B3 und B4 Abstoßungen (ISHLT 1996) als B2R (ISHLT 2006).

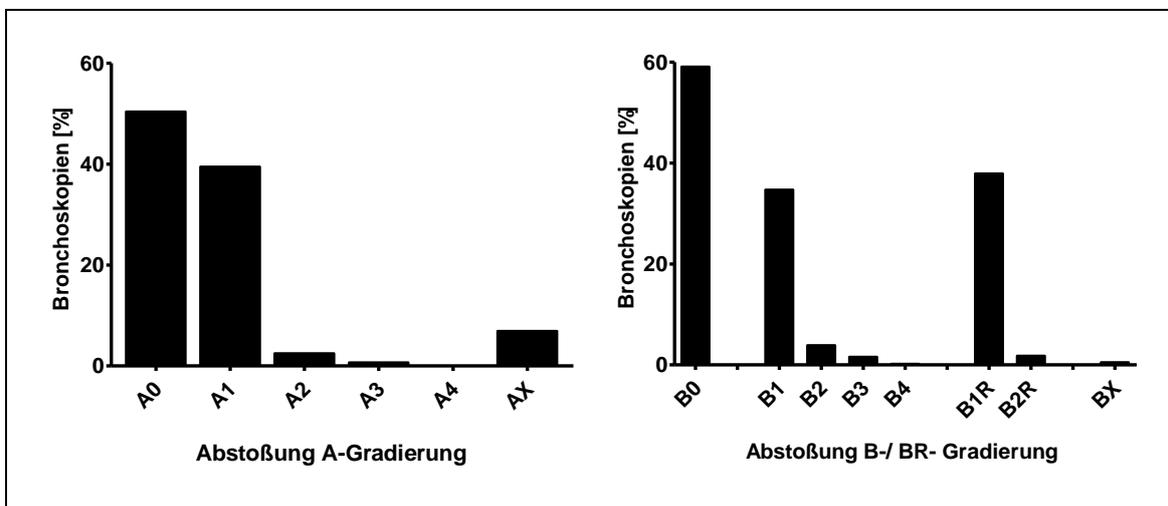


Abbildung 13: Akute zelluläre Abstoßung nach ISHLT Grad A (links) und Grad B bzw. BR (rechts) bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien mit transbronchialer Biopsie. Von den insgesamt 435 Bronchoskopien mit transbronchialer Biopsie verteilen sich die Abstoßungen wie folgt: A0 50,4 % (n = 219), A1 39,5 % (n = 172), A2 2,5 % (n = 11), A3 0,7 % (n = 3), A4 keine, AX 6,9 % (n = 30); B0 59,1 % (n = 257), B1 34,7 % (n = 151), B2 3,9 % (n = 17), B3 1,6 % (n = 7), B4 0,2 % (n = 1), BX 0,5 % (n = 2); B1R 37,9 % (n = 165), B2R 1,8 % (n = 8).

Eine therapierelevante ACR ($A \geq 2$, $B \geq 2$ bzw. B2R und A1B1) wurde bei 21,8 % (n = 95) der durchgeführten Bronchoskopien diagnostiziert, eine nicht-therapierelevante ACR ($A \leq 1$ bei $B = 0$, $B \leq 1$ bzw. B1R bei $A = 0$) in 78,2 % (n = 340) der Fälle (Abbildung 14).

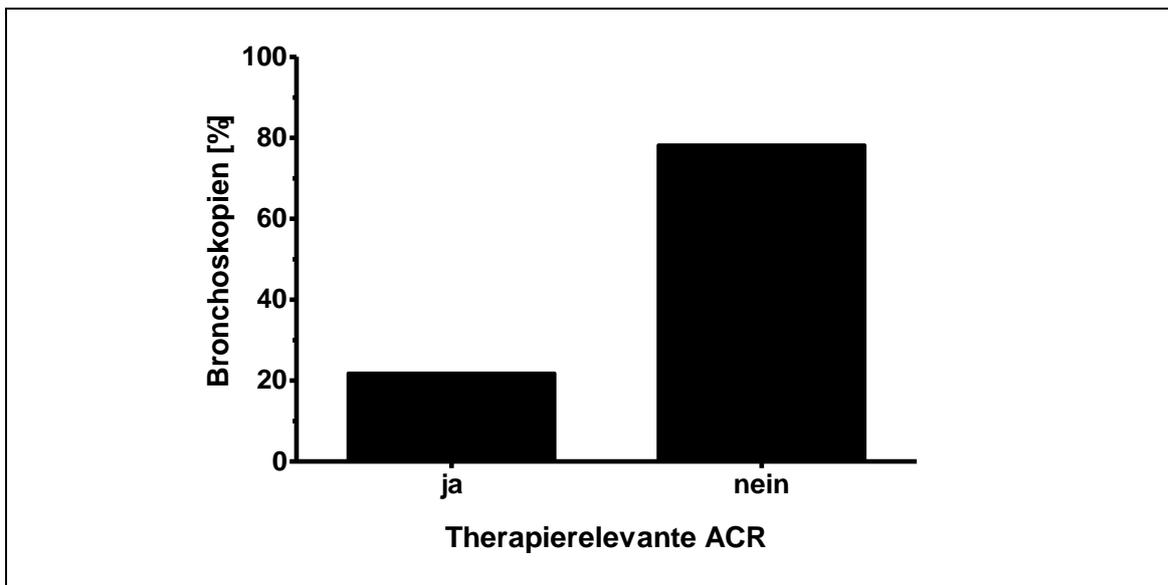


Abbildung 14: Therapierelevante akute zelluläre Abstoßung bezogen auf die Gesamtzahl der durchgeführten Bronchoskopien mit transbronchialer Biopsie. Eine therapierelevante ACR lag bei 21,8 % (n = 95) der Untersuchungen, eine nicht-therapierelevante ACR bei 78,2 % (n = 340) der Untersuchungen vor. Abkürzungen: ACR: akute zelluläre Abstoßung

Die meisten therapierelevanten akuten zellulären Abstoßungsreaktionen traten innerhalb der ersten zwei Jahre nach Transplantation auf, ein Großteil davon innerhalb der ersten 90 Tage nach Transplantation. Interessant ist in diesem Zusammenhang die Betrachtung der Auftretenswahrscheinlichkeit einer therapierelevanten ACR im Vergleich mit einer nicht-therapierelevanten ACR, gemessen an der Gesamtzahl der durchgeführten TBBs in Abhängigkeit von der Zeit nach Transplantation. Innerhalb der ersten 90 Tage nach Tx lag die Wahrscheinlichkeit einer ACR bei 34% aller durchgeführten TBBs, an den Tagen 91-365 bzw. 366-730 (2. Jahr) bei etwa 20% und im 3. bis 5. Jahr nach Transplantation bei etwa 10%. Bemerkenswert war, dass der Anteil an therapierelevanten ACRs im 6. und 7. Jahr nach Tx auf etwa 50% aller durchgeführten TBBs anstieg und nach dem 7. Jahr weiterhin bei über 40% lag (Abbildung 15).

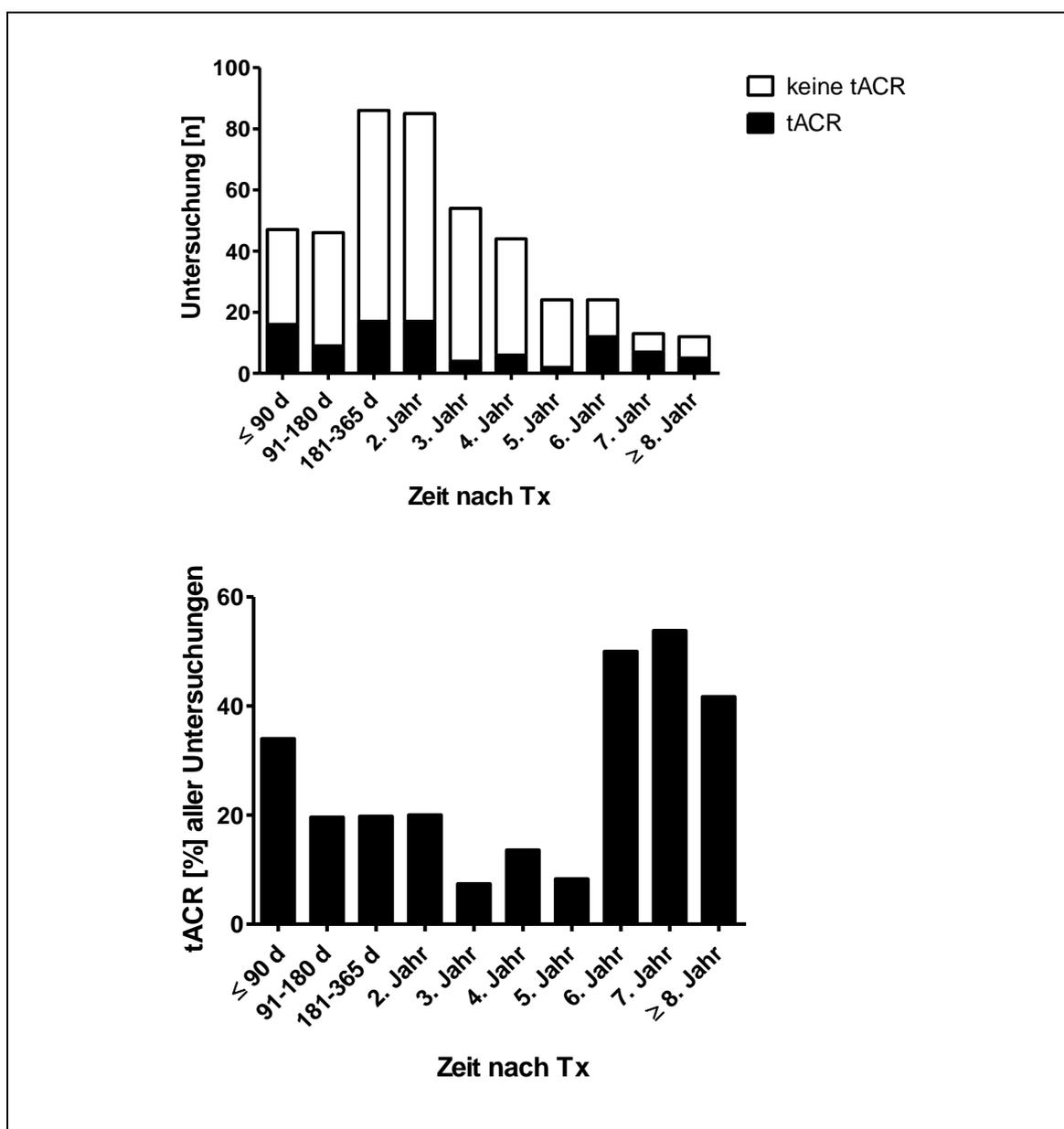


Abbildung 15: Therapie-relevante akute zelluläre Abstoßung versus nicht-therapie-relevante akute zelluläre Abstoßung bezogen auf die Gesamtzahl aller durchgeführten Untersuchungen mit TBB in Abhängigkeit von der Zeit nach Transplantation (oben), Häufigkeit einer therapie-relevanten akuten zellulären Abstoßung in Prozent aller durchgeführten Untersuchungen mit TBB in Abhängigkeit von der Zeit nach Transplantation (unten). Die meisten tACRs wurden im ersten Jahr nach Transplantation dokumentiert ($n = 42$). Dies erklärt sich dadurch, dass innerhalb des ersten Jahres nach Tx häufiger Bronchoskopien ($n = 179$) durchgeführt werden als in den Jahren danach. Die Häufigkeit einer tACR im ersten Jahr lag bei 23,5 % aller Untersuchungen. Im Vergleich dazu lag der Anteil einer tACR im sechsten Jahr nach Tx bei 50 % ($n = 12$) aller Untersuchungen. Hier wurden allerdings deutlich weniger Bronchoskopien ($n = 24$) durchgeführt. Das Verhältnis von Routinebronchoskopie zu klinisch-indizierter Bronchoskopie reduziert sich im Verlauf einer Transplantation, daraus resultiert die hohe Ausbeute an tACRs ab dem fünften Jahr nach Tx. Abkürzungen: tACR: therapie-relevante akute zelluläre Abstoßung, Tx: Transplantation

3.4 Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

Von den 89 untersuchten Patienten hatten 32,6% ($n = 29$) zum Zeitpunkt des Studienabschlusses ein BOS Stadium ≥ 1 entwickelt. Konsekutiv waren 67,4% ($n = 60$) der Patienten BOS-frei, 51,7% ($n = 46$) im BOS Stadium 0 und 15,7% ($n = 14$) im

Stadium 0-p. Von den 29 Patienten mit BOS wurde bei 48,3% (n = 14) als höchstes Stadium BOS 1 nachgewiesen, bei 27,6% (n = 8) Stadium 2 und bei 24,1% (n = 7) Stadium 3 (Abbildung 16).

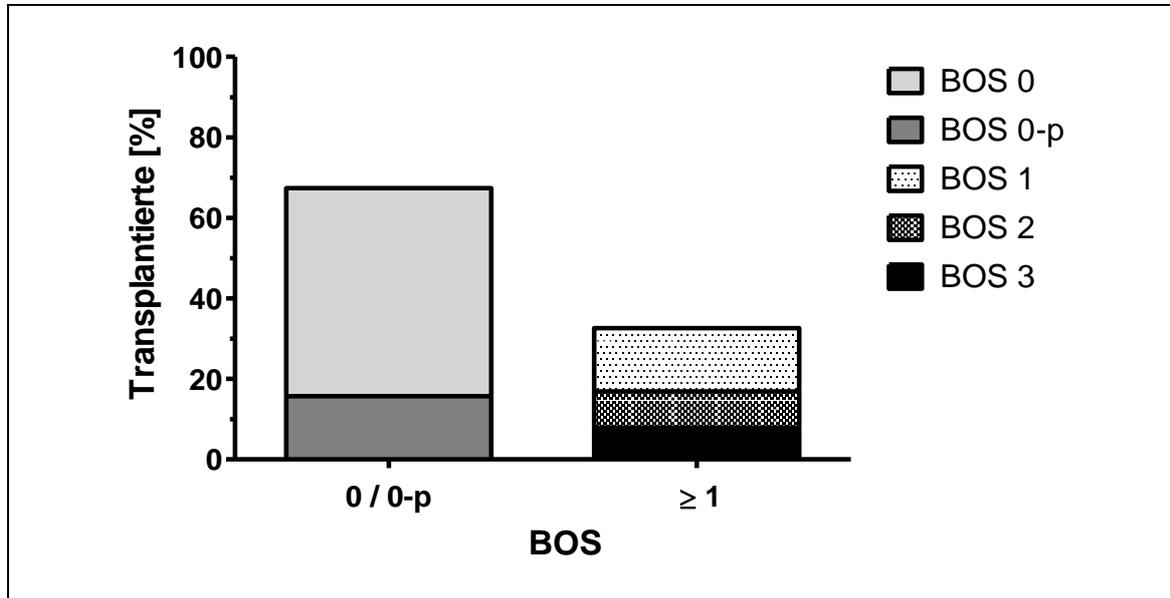


Abbildung 16: BOS-Stadium der Transplantierten zum Zeitpunkt des Studienabschlusses. 67,4 % (n = 60) blieben BOS-frei, 32,6 % (n = 29) entwickelten ein BOS-Stadium ≥ 1 . Von den Patienten ohne BOS befanden sich 51,7 % (n = 46) im BOS Stadium 0 und 15,7 % (n = 14) im BOS Stadium 0-p. Von den Patienten mit BOS befanden sich 15,7 % (n = 14) im BOS Stadium 1, 9,0 % (n = 8) im Stadium 2 und 7,9 % (n = 7) in Stadium 3. Abkürzungen: BOS: Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

Das BOS Stadium 0-p trat im Median nach 12 (3, 12–30, 104) Monaten auf, wohingegen für die Entwicklung eines BOS Stadium 1 im Median 20 (8, 12–44, 134) Monate vergingen und für die Entwicklung der Stadien 2 und 3 21 (4, 14–60, 110) respektive 36 (18, 19–112, 126) Monate (Abbildung 17).

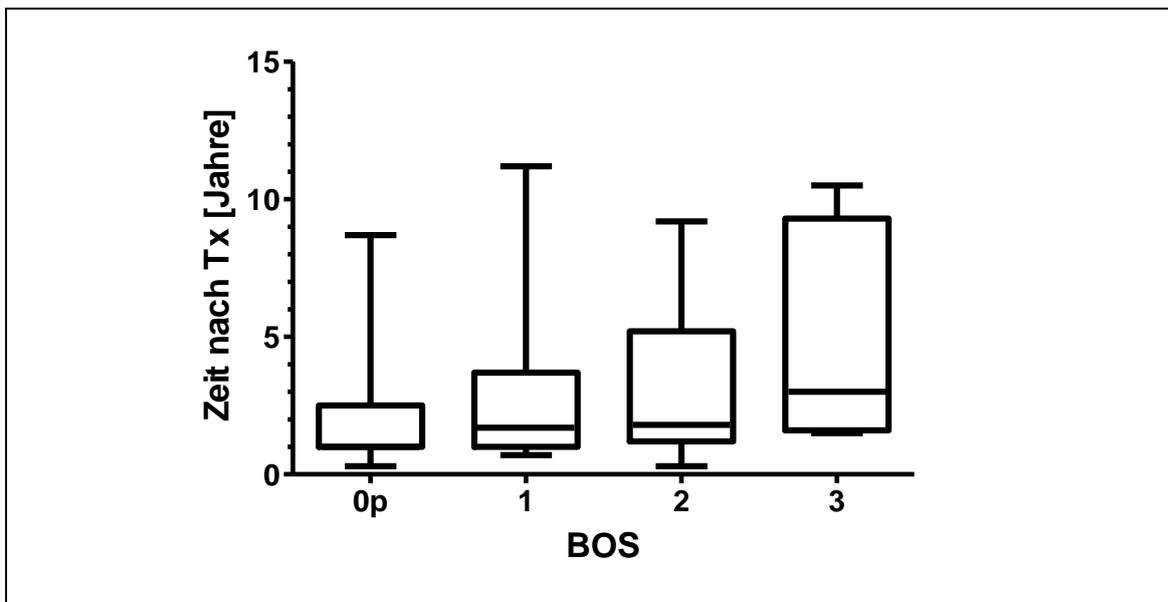


Abbildung 17: Entwicklung eines BOS (Stadium 0-p, 1, 2, 3) in Abhängigkeit von der Zeit nach Transplantation. Das BOS Stadium 0-p trat im Median nach 12 Monaten auf, BOS 1 nach 20 Monaten, BOS 2 nach 21 Monaten und BOS 3 nach 36 Monaten. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum für das jeweilige Stadium. Abkürzungen: BOS: Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom, Tx: Transplantation

3.5 Überlebensrate und Todesursache

Von den 89 untersuchten Patienten verstarben 10,1% ($n = 9$) während des Untersuchungszeitraumes. Die durchschnittliche Überlebensrate dieser Kohorte betrug nach drei und nach sechs Monaten 100%, nach einem Jahr ebenfalls 100%, nach drei Jahren 94%, nach fünf Jahren 85% und nach zehn Jahren 68% (Abbildung 18).

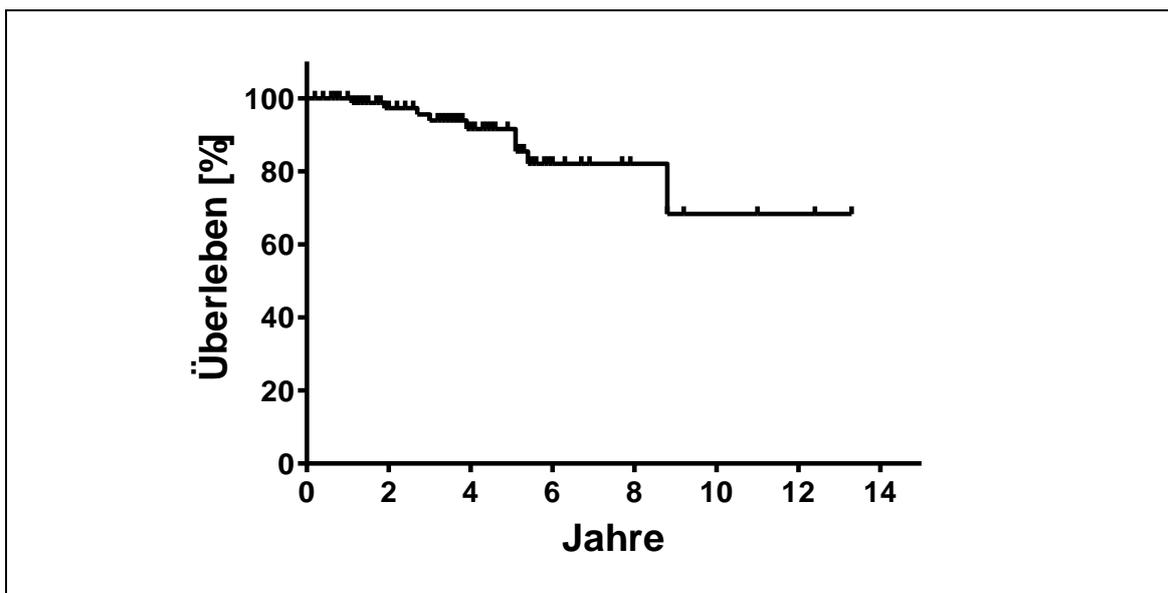


Abbildung 18: Überlebensrate der Studienpatienten.

Mit 77,8% (n = 7) war die Infektion häufigste Todesursache, wobei in allen Fällen die Lunge als Infektionsfokus auszumachen war. Von den sieben Patienten entwickelten 71,4% (n = 5) eine pneumogene Sepsis mit Multiorganversagen. Bei einem der fünf Patienten lag eine medikamenteninduzierte Leukozytopenie vor, wodurch es, ausgehend von einer Racheninfektion, zusätzlich zu einer HSV1-Virämie kam. Bei einem anderen der fünf Patienten lag eine PTLD als erschwerende Begleiterkrankung vor. Andere Todesursache war zum einen ein akutes Transplantatversagen bei schwergradiger akuter zellulärer Abstoßung und zum anderen eine maligne Neoplasie der Haut. Bei 44,4% der Verstorbenen (n = 4) lag zum Todeszeitpunkt ein BOS vor.

3.6 Infektionsbedingte Risikofaktoren für das Auftreten einer ACR

3.6.1 Bakterielle Infektion und Kolonisation

Der Nachweis von grampositiven oder gramnegativen Bakterien in der bronchoalveolären Lavage, unabhängig davon, ob zum Untersuchungszeitpunkt eine Infektion vorlag oder ob es sich um eine reine Kolonisation handelte, war kein Risikofaktor für das Auftreten einer therapielevanten ACR ($p = \text{n.s.}$). Auch bei der differentiellen Betrachtung gramnegativer Bakterien (*Pseudomonas aeruginosa* bzw. *Stenotrophomonas maltophilia*) aufgrund ihrer besonderen Pathogenität für lungentransplantierte Patienten zeigten sich keine Unterschiede hinsichtlich der Auftretenswahrscheinlichkeit einer therapielevanten akuten Abstoßungsreaktion ($p = \text{n.s.}$).

Das Vorliegen einer bakteriellen Pneumonie konnte als eindeutiger Risikofaktor für eine akute Abstoßungsreaktion zum Untersuchungszeitpunkt identifiziert werden. Nach o. g. Definition bezieht sich dieses Risiko sowohl auf eine Pneumonie mit Erregernachweis („bewiesene Pneumonie“) als auch auf eine Pneumonie ohne Erregernachweis („wahrscheinliche Pneumonie“). Die folgenden Ergebnisse beziehen sich daher auf Pneumonie allgemein. Eine bakterielle Pneumonie erhöht das Auftreten einer akuten Abstoßungsreaktion signifikant und zwar sowohl bezogen auf die therapierelevante ACR ($p < 0,05$) als auch auf die ACR Grad A ($p < 0,01$) und Grad B ($p < 0,001$) bzw. BR ($p < 0,01$) (Abbildung 19 und 20).

Ergebnisse

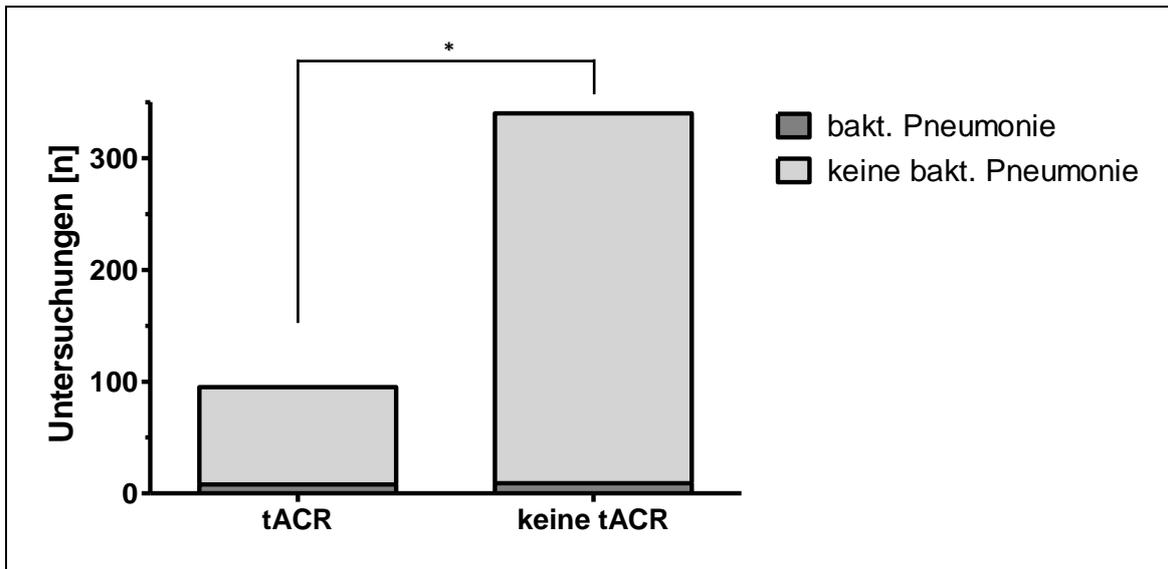


Abbildung 19: Häufigkeit einer bakteriellen Pneumonie bei einer therapierelevanten akuten zellulären Abstoßung versus nicht-therapierelevanten akuten zellulären Abstoßung bezogen auf die Anzahl der Untersuchungen. Eine simultane bakterielle Pneumonie lag in 8,4 % (n = 8) aller tACR-Fälle (n = 95) vor. Im Falle einer nicht-therapierelevanten ACN war die Häufigkeit einer begleitenden bakteriellen Pneumonie wesentlich geringer und lag in 2,6 % (n = 9) der Fälle (n = 340) vor. *: $p < 0,05$. Abkürzungen: tACR: therapierelevante akute zelluläre Abstoßung, bakt.: bakteriell

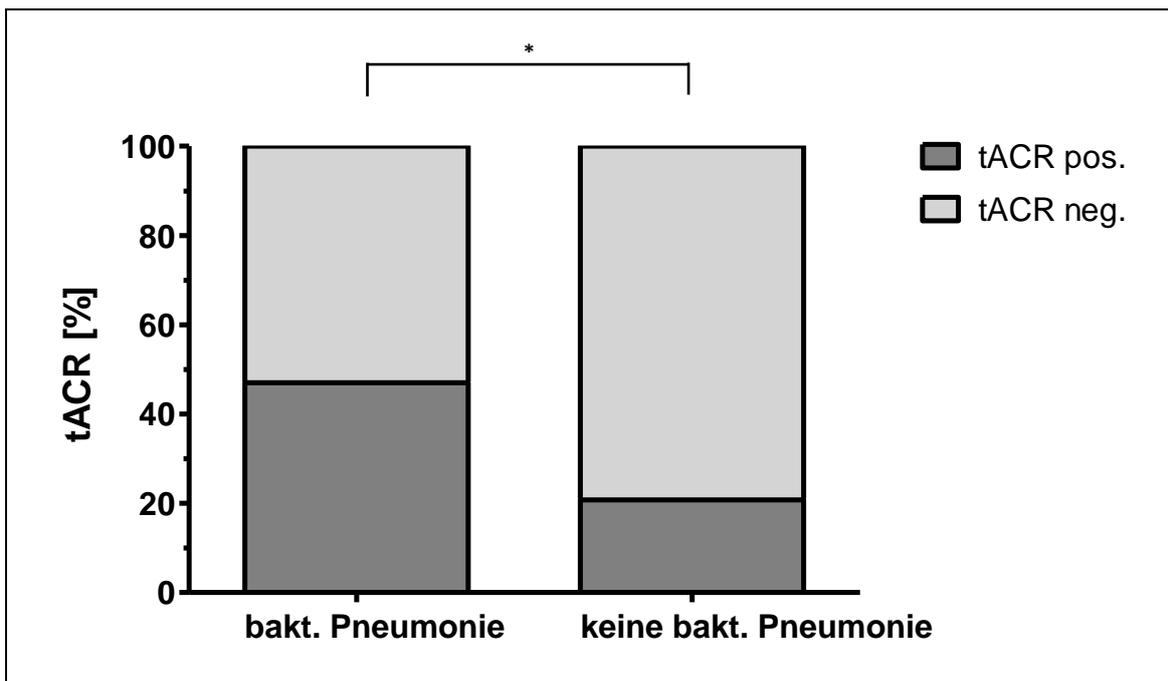


Abbildung 20: Häufigkeit einer therapierelevanten ACN bei Vorliegen einer bakteriellen Pneumonie versus keine bakterielle Pneumonie. Eine tACR ist bei Vorliegen einer bakteriellen Pneumonie wesentlich wahrscheinlicher (47,1 % (n = 8) aller Pneumonie-Fälle (n = 17)) als ohne Vorliegen einer bakteriellen Pneumonie (20,8 % (n = 87) aller Nicht-Pneumonie-Fälle (n = 418)). *: $p < 0,05$. Abkürzungen: tACR: therapierelevante akute zelluläre Abstoßung, bakt.: bakteriell

Das Risiko des Auftretens einer therapierelevanten ACN bei Vorliegen einer bakteriellen Tracheobronchitis bzw. einer bakteriellen Atemwegskolonisation ist erhöht, erreicht jedoch keine statistische Signifikanz ($p = 0,068$ bzw. $p = 0,058$).

3.6.2 Mykotische Infektion und Kolonisation

Eine Kolonisation der Atemwege durch Pilze hatte keinen Einfluss auf die Auftretenswahrscheinlichkeit einer therapielevanten ACR ($p = \text{n.s.}$). Auch bei der separaten Betrachtung der einzelnen Pilzspezies aufgrund ihrer unterschiedlichen Pathogenität konnten weder *Aspergillus spp.* ($p = \text{n.s.}$) noch *Candida spp.* ($p = \text{n.s.}$) als Risikofaktor identifiziert werden. Einzig scheint eine Atemwegskolonisation mit Pilzen Auswirkungen auf die Grad B-Abstoßung zu haben, wobei hier eine statistische Signifikanz knapp verfehlt wurde ($p = 0,060$). Eine Auswirkung auf die Grad A- bzw. Grad BR-Abstoßung konnte nicht nachgewiesen werden ($p = \text{n.s.}$). Eine Auswertung von Tracheobronchitis bzw. Pneumonie wurde aufgrund der niedrigen Patientenanzahl ($n = 4$ bzw. $n = 1$) nicht vorgenommen.

3.6.3 Virale Infektion und Replikation

Ein positiver Virusnachweis in der bronchoalveolären Lavage spielte als Risikofaktor für das Auftreten einer therapielevanten ACR ohne weitere Differenzierung in die einzelnen Virusspezies keine wesentliche Rolle ($p = \text{n.s.}$). Auch die Unterscheidung zwischen einer symptomatischen viralen Infektion und dem asymptomatischen Virusnachweis hatte in dieser Studie keinen Einfluss auf die Auftretenswahrscheinlichkeit einer therapielevanten akuten zellulären Abstoßungsreaktion ($p = \text{n.s.}$). Es wurden daher die einzelnen Virusspezies auf ihre Bedeutung im Zusammenhang mit einer akuten Abstoßung untersucht. Beim Nachweis von CMV, EBV oder HSV/VZV in der bronchoalveolären Lavage lag kein erhöhtes Risiko für eine akute therapierelevante Abstoßungsreaktion zum Untersuchungszeitpunkt vor ($p = \text{n.s.}$); auch hatte ihr Nachweis keinen Einfluss auf ein späteres Auftreten einer therapielevanten ACR ($p = \text{n.s.}$). Das Vorliegen von CARV zum Untersuchungszeitpunkt war jedoch eindeutig mit einem erhöhten Risiko für das gleichzeitige Auftreten einer therapielevanten ACR assoziiert ($p < 0,05$), ebenso wie mit einem höheren Risiko zu einem späteren Zeitpunkt eine therapierelevante ACR zu erleiden ($p < 0,01$) (Abbildung 21 und 22).

Ergebnisse

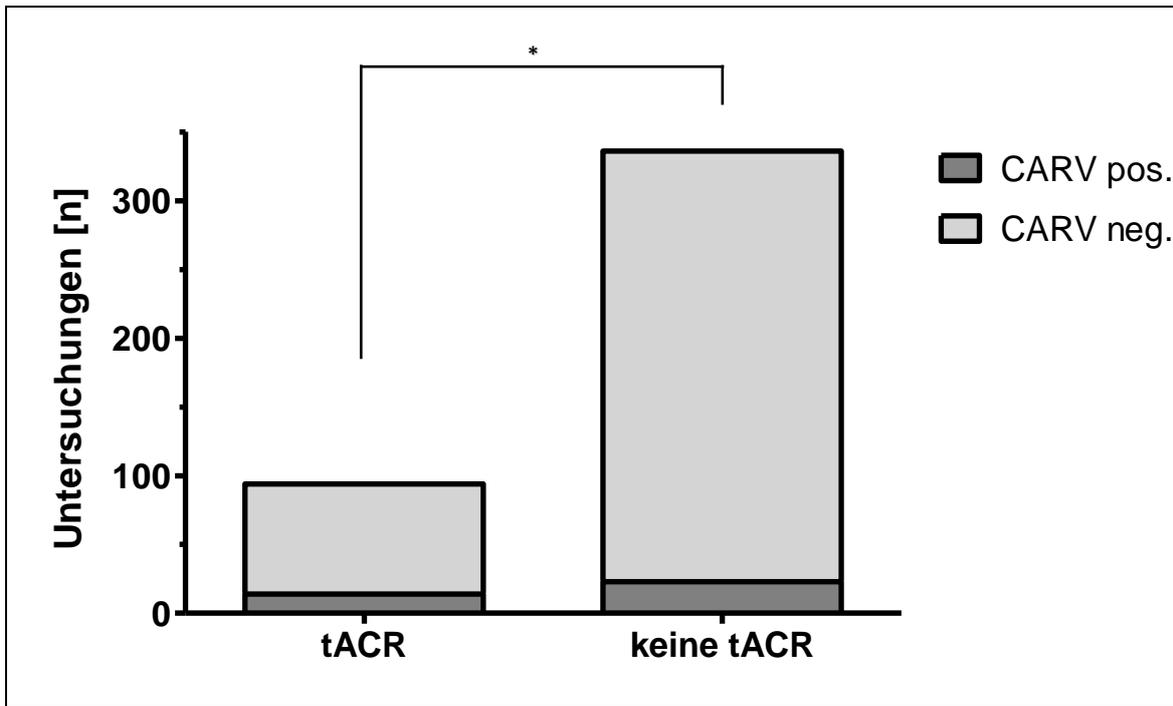


Abbildung 21: Häufigkeit eines CARV-Nachweises bei einer therapierelevanten akuten zellulären Abstoßung versus nicht-therapierelevanten akuten zellulären Abstoßung bezogen auf die Anzahl der Untersuchungen. Ein simultaner CARV-Nachweis lag bei 14,9 % (n = 14) aller tACR-Fälle (n = 94) vor. Im Falle einer nicht-therapierelevanten ACR war die Häufigkeit eines CARV-Nachweises wesentlich geringer und lag bei nur 6,8 % (n = 23) der Fälle (n = 336) vor. *: p < 0,05. Abkürzungen: tACR: therapierelevante akute zelluläre Abstoßung, CARV: community-acquired respiratory virus (respiratorische Viren)

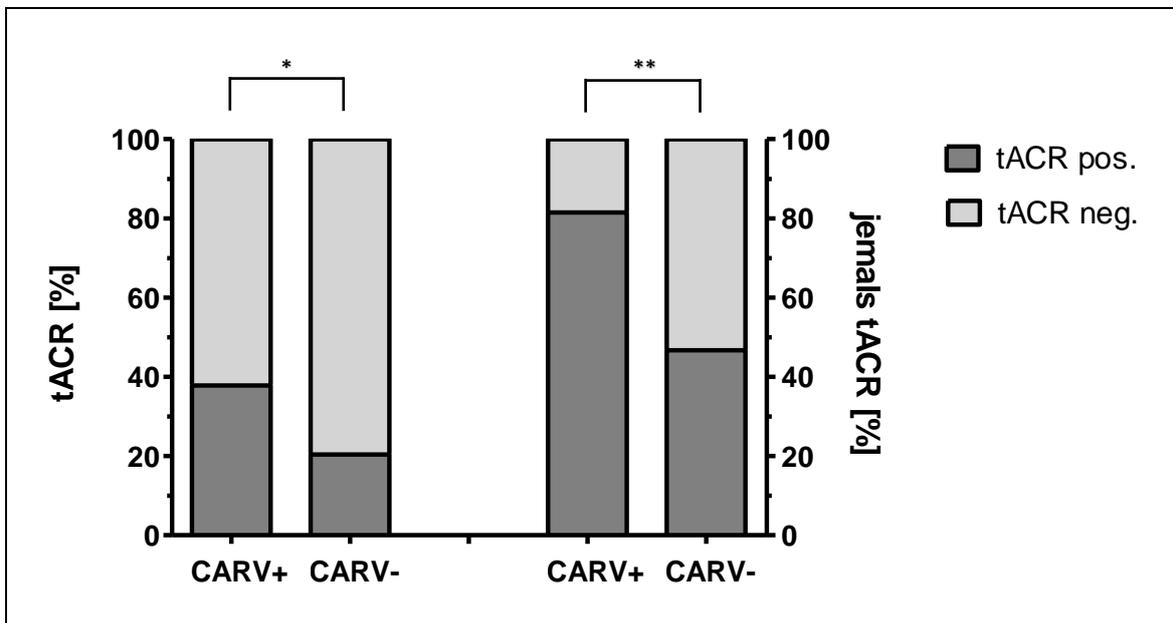


Abbildung 22: Häufigkeit einer therapierelevanten ACR bei Vorliegen eines positiven CARV-Nachweises versus negativen CARV-Nachweises zum Untersuchungszeitpunkt (links), Häufigkeit einer therapierelevanten ACR bei Vorliegen eines positiven CARV-Nachweises versus negativen CARV-Nachweises zu einem späteren Zeitpunkt (rechts). Eine tACR war bei Vorliegen eines CARV-Nachweises zum Untersuchungszeitpunkt wesentlich wahrscheinlicher (37,8 % (n = 14) aller CARV-positiven-Fälle (n = 37)) als ohne Vorliegen eines CARV-Nachweises (20,4 % (n = 80) aller CARV-negativen-Fälle (n = 393)). Ebenso war die Wahrscheinlichkeit, eine tACR zu einem späteren Zeitpunkt zu erleiden, bei einmaligem CARV-Nachweis in der bronchoalveolären Lavage erhöht. *: p < 0,05, **: p < 0,01. Abkürzungen: tACR: therapierelevante akute zelluläre Abstoßung, CARV: community-acquired respiratory virus (respiratorische Viren)

Dieses signifikant höhere Risiko ließ sich auch für die ACR Grad B ($p < 0,001$) bzw. BR ($p < 0,001$) nachweisen (Abbildung 23). Für die ACR Grad A konnte dieser eindeutige Zusammenhang nicht bewiesen werden ($p = n.s.$).

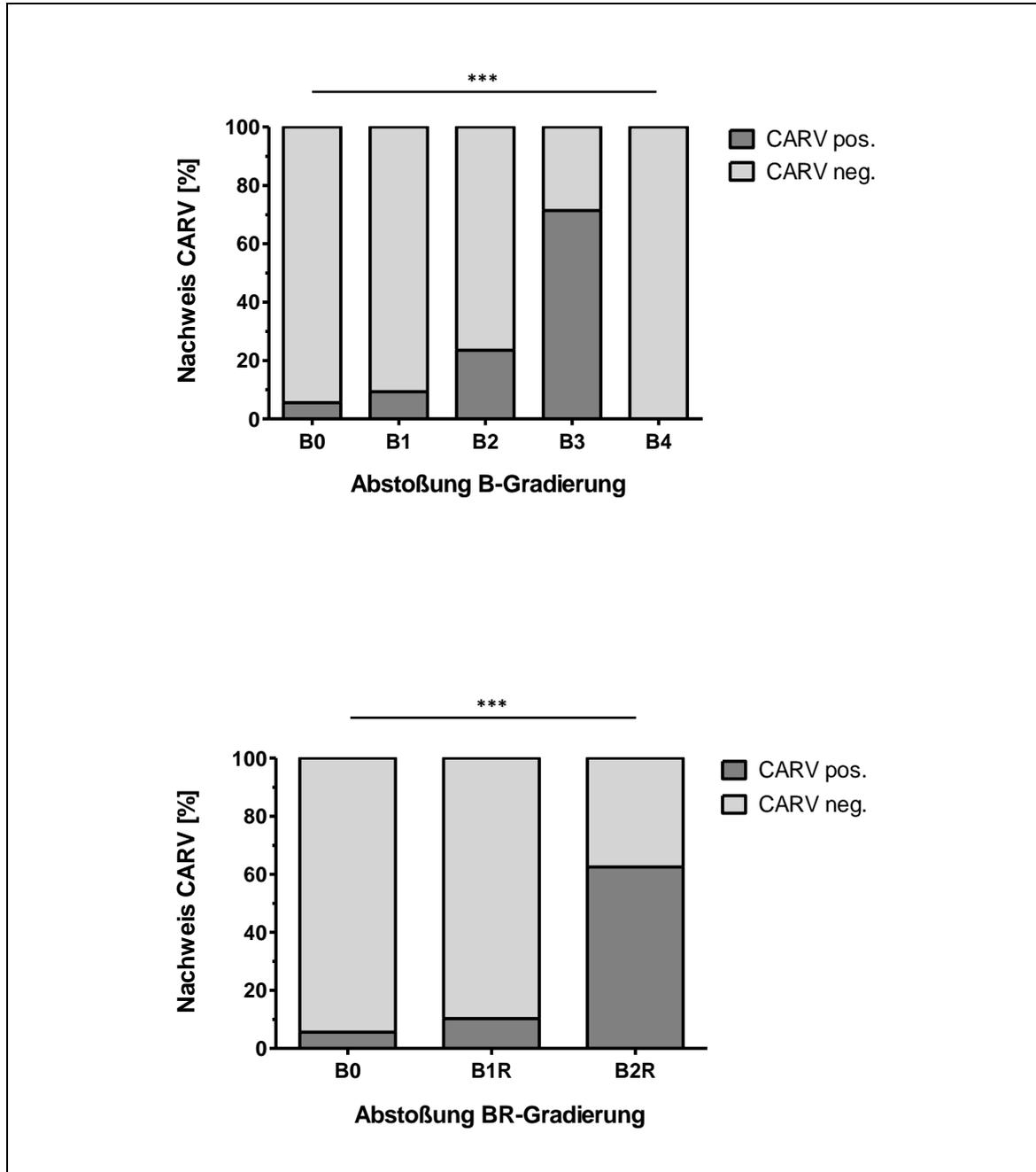


Abbildung 23: CARV-Nachweis gemäß des Schweregrades einer B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT. B-Gradierung: CARV-positiv: B0 5,6 % (n = 14), B1 9,3 % (n = 14), B2 23,5 % (n = 4), B3 71,4 % (n = 5); CARV-negativ: B0 94,4 % (n = 238), B1 90,7 % (n = 137), B2 76,5 % (n = 13), B3 28,6 % (n = 2), B4 100 % (n = 1). BR-Gradierung: CARV-positiv: B0 5,6 % (n = 14), B1R 10,3 % (n = 17), B2R 62,5 % (n = 5); CARV-negativ: B0 94,4 % (n = 238), B1R 89,7 % (n = 148), B2R 37,5 % (n = 3). ***: $p < 0,001$. Abkürzungen: CARV: community-acquired respiratory virus (respiratorische Viren)

3.7 Zell- und Zytokinmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR

Für die Analyse des Zell- und Zytokinmusters der bronchoalveolären Lavage wurden alle Untersuchungen exkludiert, bei denen die Patienten zum Untersuchungszeitpunkt eine bakterielle, mykotische oder virale Infektion aufwiesen. Als Infektion wurde die bakterielle Pneumonie („bewiesen“ und „wahrscheinlich“, n = 17), die mykotische Pneumonie („bewiesen“ und „wahrscheinlich“, n = 0), die symptomatische virale Infektion (n = 14) und die CMV-Pneumonitis („bewiesen“ und „wahrscheinlich“, n = 2) gewertet. Insgesamt wurden somit 31 Untersuchungen (therapierelevante ACR (n = 12), nicht-therapierelevante ACR (n = 19); A0 (n = 13), A1 (n = 14), A2 (n = 2), A3 (n = 2); B0 (n = 16), B1 (n = 10), B2 (n = 2), B3 (n = 2), B4 (n = 1); B1R (n = 11), B2R (n = 4)) aufgrund des Vorliegens einer Infektion für die weitere BAL-Analyse ausgeschlossen (bei zwei Untersuchungen lag simultan eine bakterielle und virale Infektion vor). Darüber hinaus wurden weitere vier Untersuchungen (therapierelevante ACR (n = 2), nicht-therapierelevante ACR (n = 2); A0 (n = 1), A1 (n = 3); B0 (n = 2), B1 (n = 2); B1R (n = 2)) wegen inadäquater BAL (vorwiegend Bronchialepithel) exkludiert. AX bzw. BX wurden bei der Auswertung der Daten nicht berücksichtigt.

3.7.1 Zellmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR

3.7.1.1 Gesamtzellzahl

Da die Gesamtzellzahl durch das Institut für Infektiologie als Absolutwert (Zellzahl x 10⁶) angegeben wurde, musste diese vor der weiteren Analyse zunächst auf eine Einheit normiert werden. Hierzu wurde der Absolutwert der Zellzahl durch die Recovery dividiert und als Einheit (Zellzahl x 10³)/ml gewählt. Neben o.g. Untersuchungen wurden bei der Zellzahlanalyse fünf weitere Untersuchungen wegen ausgeprägter Erythrozytenlyse exkludiert. Bei anderen zwei Untersuchungen wurden durch das Institut für Infektiologie keine Zellzahlen angegeben (therapierelevante ACR (n = 4), nicht-therapierelevante ACR (n = 3); A0 (n = 3), A1 (n = 4); B0 (n = 2), B1 (n = 4), B2 (n = 1); B1R (n = 5)).

Die Gesamtzellzahl in der bronchoalveolären Lavage von Patienten ohne terapierelevante ACR lag mit einem Median von 115,7 (2,7, 71,8–176,4, 1146,7) x 10³/ml signifikant niedriger als die von Patienten mit terapierelevanter ACR, die eine mediane Gesamtzellzahl von 150,0 (20,0, 92,4–232,9, 720,0) x 10³/ml aufwiesen (p < 0,01). Bezugnehmend auf die A- und B- bzw. BR-Gradierung konnte eine Anstiegstendenz der Zellzahl mit zunehmendem Schweregrad der Abstoßung

dokumentiert werden, welche in dieser Studie allerdings nur für die B- und BR-Gradierung signifikant war ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$). Aufgrund der klinischen Relevanz wurde bei der Analyse der BAL eine zusätzliche Differenzierung der ACR anhand der Schwere der Abstoßung vorgenommen; verglichen wurden A0 und A1 bzw. B0 und B1 („keine/leichte Abstoßung“) mit $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$ („schwere Abstoßung“). Hinsichtlich der Gesamtzellzahl wurde in beiden Fällen kein signifikanter Unterschied gefunden (Tabellen 9 bis 11).

3.7.1.2 Makrophagen

Aus drei Untersuchungen (therapierelevante ACR ($n = 1$), nicht-therapierelevante ACR ($n = 2$); A0 ($n = 2$), A1 ($n = 1$); B0 ($n = 2$), B2 ($n = 1$); B1R ($n = 1$)) konnten keine Angaben zu Makrophagen entnommen werden.

Der prozentuale Anteil von Makrophagen an der Gesamtzellzahl war bei Patienten mit therapierrelevanter ACR deutlich niedriger als bei Patienten ohne therapierelevante ACR; der Anteil lag im erstgenannten Fall im Median bei 80,0 (13,0, 62,0–90,8, 100,0)%, im zweitgenannten Fall im Median bei 88,0 (6,8, 75,0–93,0, 99,0)% ($p < 0,05$). Dieser Unterschied wurde überdies vor allem bei der Auftrennung nach Grad A- und B- bzw. BR-Abstoßung eminent. Sowohl bei der Abstoßung Grad A als auch bei der Abstoßung Grad B bzw. BR nahm der Anteil an Makrophagen mit der Schwere der Abstoßung ab ($p = 0,095$; $p < 0,01$; $p < 0,01$). Ähnliche Ergebnisse erzielte der Vergleich von keiner/leichter mit schwerer A-Abstoßung ($p = \text{n.s.}$) bzw. B-Abstoßung ($p < 0,01$) (Abbildung 24 und Tabellen 9 bis 11).

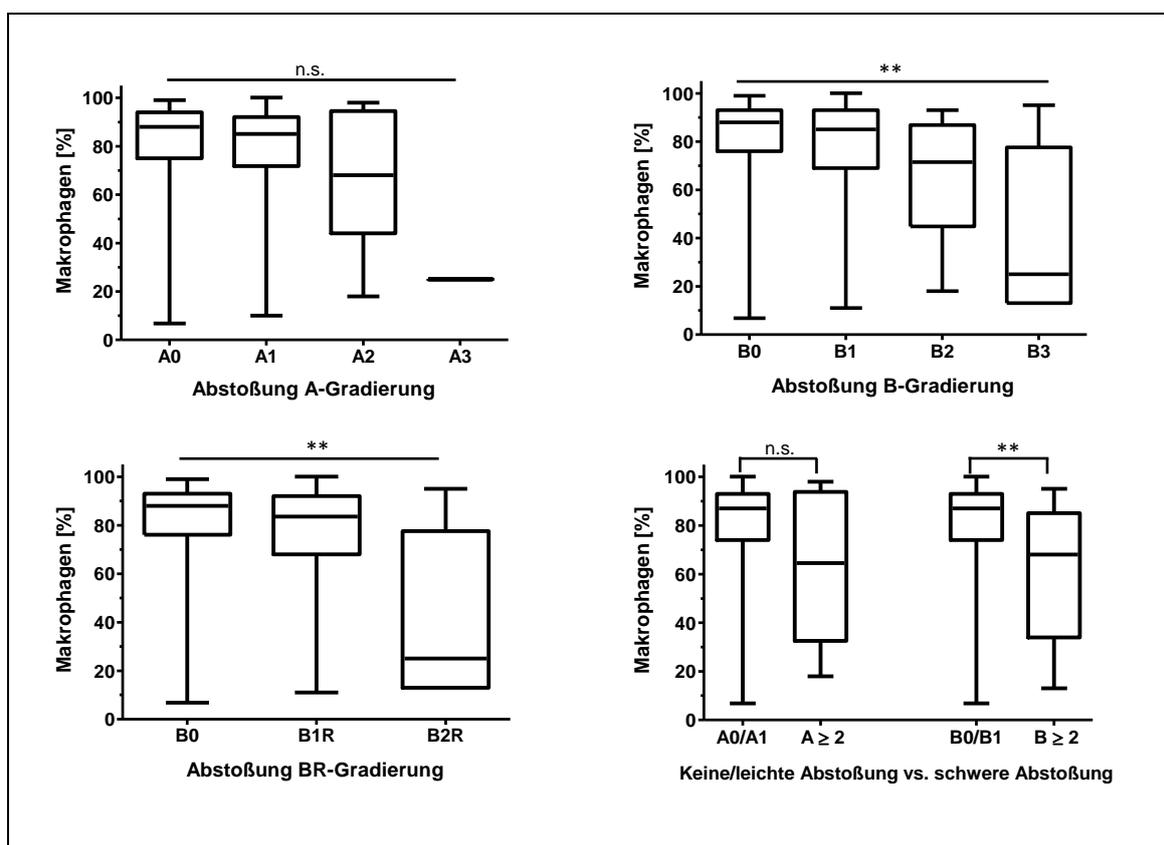


Abbildung 24: Prozentualer Anteil von Makrophagen an der Gesamtzellzahl der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades einer A- und B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT (oben links und rechts, unten links) und bezogen auf die Einteilung A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$ (unten rechts). Der prozentuale Anteil an Makrophagen nahm mit zunehmendem Schweregrad der Abstoßung ab. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum für den jeweiligen Abstoßungsgrad (siehe hierzu auch Tabellen 9 bis 11). n.s.: nicht signifikant, **: $p < 0,01$

3.7.1.3 Neutrophile

Aus fünf Untersuchungen (therapierelevante ACR ($n = 2$), nicht-therapierelevante ACR ($n = 3$); A0 ($n = 3$), A1 ($n = 2$); B0 ($n = 2$), B1 ($n = 2$), B2 ($n = 1$); B1R ($n = 3$)) konnten keine Angaben zu Neutrophilen entnommen werden.

Neutrophile Granulozyten hatten in dieser Studie bei Patienten mit therapierelevanter ACR einen signifikant größeren prozentualen Anteil an der Gesamtzellzahl als bei Patienten ohne therapierelevante ACR. So lag der Median bei Patienten mit Abstoßung bei 10,0 (0,0, 2,0–26,0, 86,0) %, während er bei Patienten ohne Abstoßung bei 6,0 (0,0, 2,0–16,0, 87,0) % lag ($p < 0,05$). Bezugnehmend auf die Grad B- bzw. BR-Abstoßung war eine deutliche Zunahme des Anteils an neutrophilen Granulozyten bei zunehmendem Schweregrad der Abstoßung ersichtlich ($p < 0,01$; $p < 0,01$). Auch der Vergleich von keiner/leichter B-Abstoßung mit schwerer B-Abstoßung zeigte einen signifikanten Unterschied in der Anzahl der neutrophilen Granulozytenzahlen ($p < 0,001$). Bei genauerer Betrachtung der Grad A-Abstoßung ließ sich ebenfalls eine Tendenz zu steigenden Granulozytenzahlen bei höhergradiger Abstoßung verzeichnen,

wobei hier das statistische Signifikanzniveau nicht erreicht wurde ($p = \text{n.s.}$) (Abbildung 25 und Tabellen 9 bis 11).

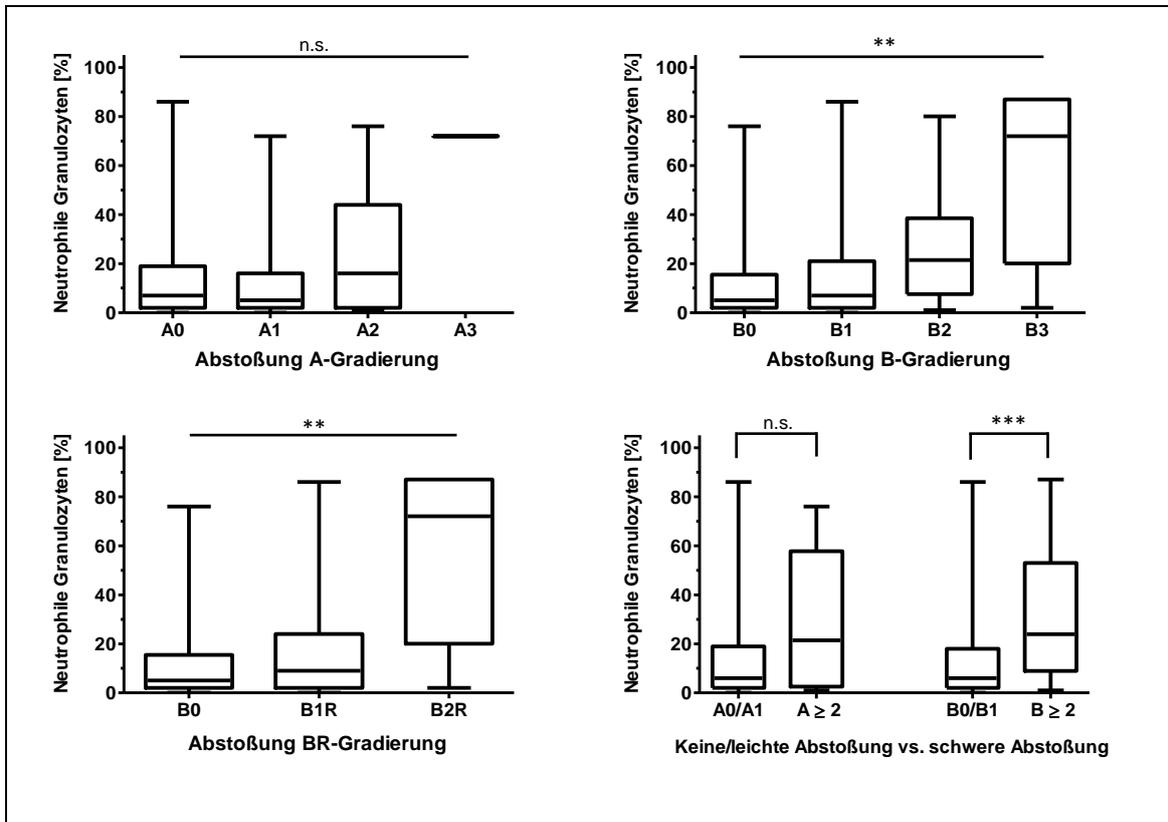


Abbildung 25: Prozentualer Anteil von Neutrophilen an der Gesamtzellzahl der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades einer A- und B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT (oben links und rechts, unten links) und bezogen auf die Einteilung A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$ (unten rechts). Der prozentuale Anteil an Neutrophilen nahm mit zunehmendem Schweregrad der Abstoßung zu. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum für den jeweiligen Abstoßungsgrad (siehe hierzu auch Tabellen 9 bis 11). n.s.: nicht signifikant, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$

3.7.1.4 Eosinophile

Aus vier Untersuchungen (therapierelevante ACR ($n = 2$), nicht-therapierelevante ACR ($n = 2$); A0 ($n = 2$), A1 ($n = 2$); B0 ($n = 2$), B1 ($n = 1$), B2 ($n = 1$); B1R ($n = 2$)) konnten keine Angaben zu Eosinophilen entnommen werden.

Der Anteil von eosinophilen Granulozyten an der Gesamtzellzahl war insgesamt sehr gering; in den allermeisten Fällen waren Eosinophile gar nicht oder zu maximal 1% vertreten. Dementsprechend erbrachte der Vergleich ihrer Anzahl bei Patienten mit oder ohne therapierelevante ACR keinen signifikanten Unterschied ($p = \text{n.s.}$). Bei Betrachtung der akuten BR-Abstoßung nach A- und B- bzw. BR-Gradierung zeigte sich jedoch, dass die Anzahl an eosinophilen Granulozyten mit dem Grad der Abstoßung ansteigt. Das statistische Signifikanzniveau wurde in dieser Studie allerdings nur für die

B-Abstoßung erreicht ($p < 0,001$). Dennoch zeigte insbesondere der Vergleich von keiner/leichter Abstoßung mit schwerer Abstoßung sowohl der Gefäße als auch der Atemwege, dass eosinophile Granulozyten bei schwerer Abstoßung deutlich häufiger vertreten sind ($p = 0,064$ bzw. $p < 0,001$) (Abbildung 26 und Tabellen 9 bis 11).

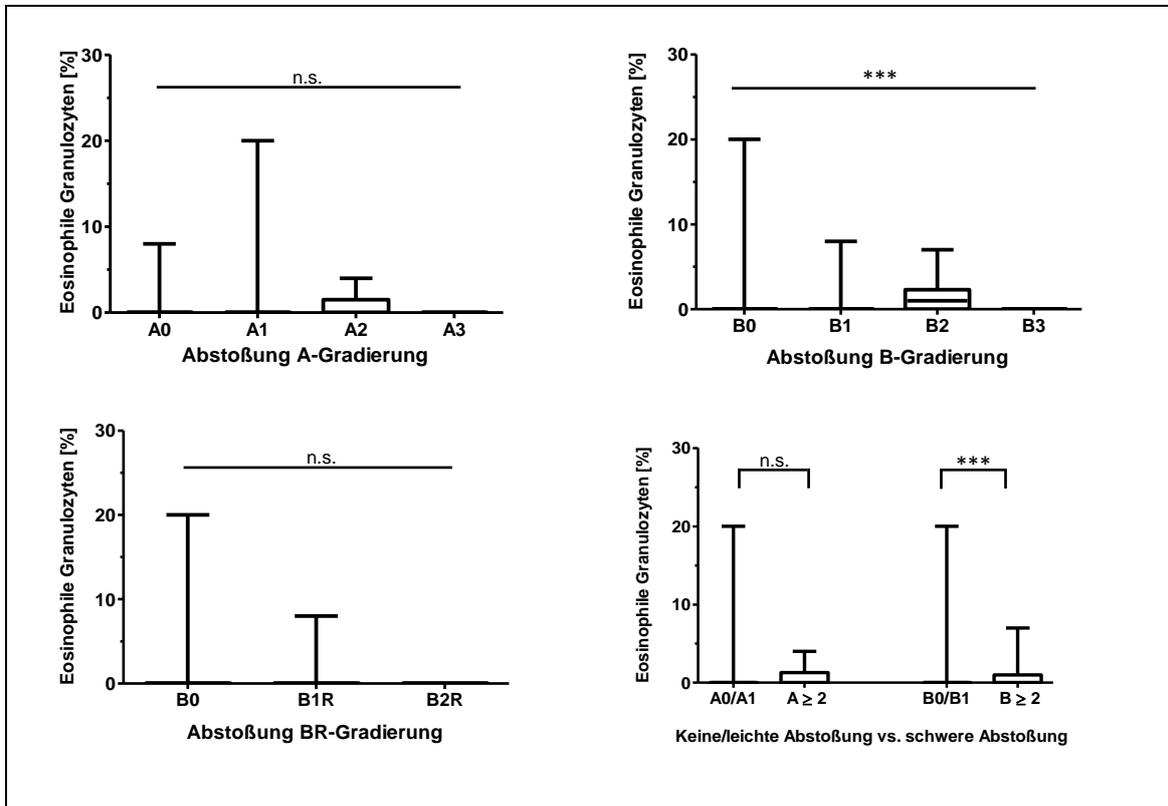


Abbildung 26: Prozentualer Anteil von Eosinophilen an der Gesamtzellzahl der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades einer A- und B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT (oben links und rechts, unten links) und bezogen auf die Einteilung A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$ (unten rechts). Der prozentuale Anteil an Eosinophilen nahm mit zunehmendem Schweregrad der Abstoßung zu. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum für den jeweiligen Abstoßungsgrad (siehe hierzu auch Tabellen 9 bis 11). n.s.: nicht signifikant, ***: $p < 0,001$

3.7.1.5 Lymphozyten

Aus vier Untersuchungen (therapierelevante ACR ($n = 2$), nicht-therapierelevante ACR ($n = 2$); A0 ($n = 2$), A1 ($n = 2$); B0 ($n = 2$), B1 ($n = 1$), B2 ($n = 1$); B1R ($n = 2$)) konnten keine Angaben zu Lymphozyten entnommen werden.

Die Anzahl an Lymphozyten in der bronchoalveolären Lavage unterschied sich bei Patienten mit oder ohne therapierrelevanter ACR nicht voneinander. Bei der Auftrennung nach A- und B- bzw. BR-Abstoßung zeigte sich jedoch eine Anstiegstendenz der Lymphozytenzahlen mit zunehmendem Schweregrad der Abstoßung, welche allerdings nur für die Grad A-Abstoßung signifikant war ($p < 0,05$). Bei der Grad B-Abstoßung

wurde die statistische Signifikanz knapp verfehlt ($p = 0,052$) (Abbildung 27 und Tabellen 9 bis 11).

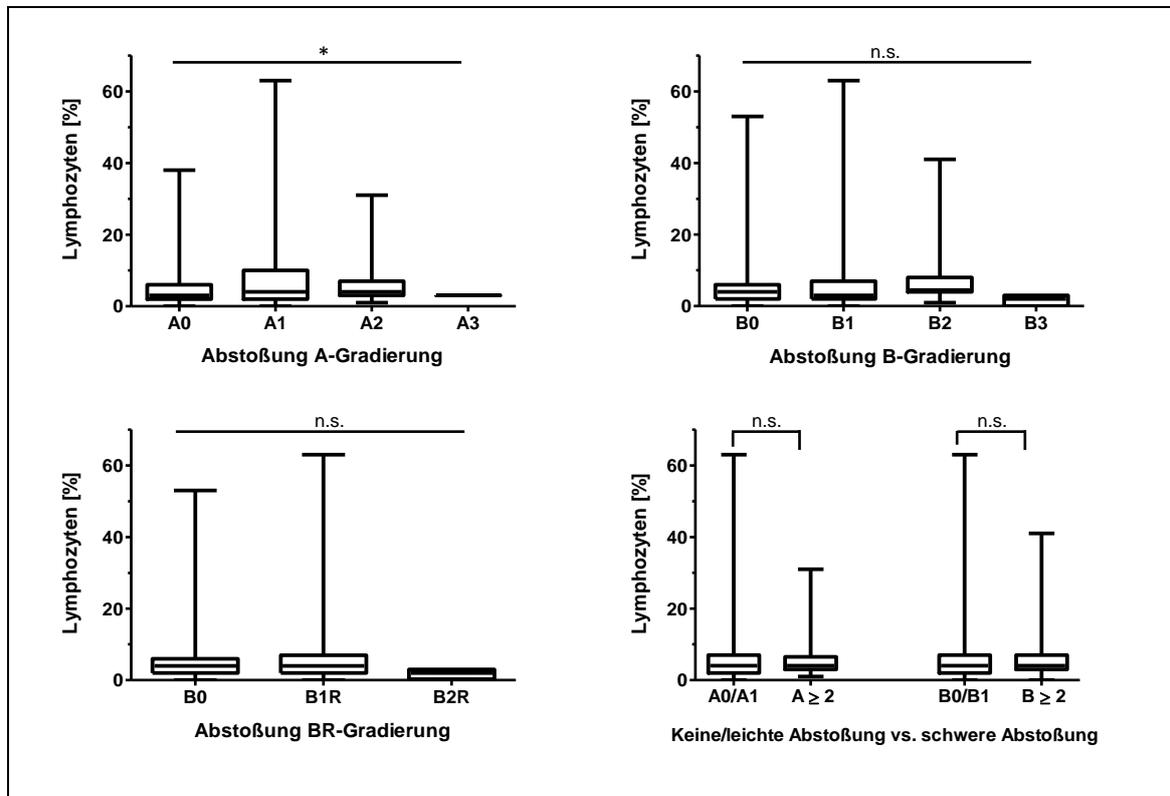


Abbildung 27: Prozentualer Anteil von Lymphozyten an der Gesamtzellzahl der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades einer A- und B- bzw. BR-Abstoßung nach ISHLT (oben links und rechts, unten links) und bezogen auf die Einteilung A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$ (unten rechts). Der prozentuale Anteil an Lymphozyten nahm mit zunehmendem Schweregrad der Abstoßung zu. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum für den jeweiligen Abstoßungsgrad (siehe hierzu auch Tabellen 9 bis 11). n.s.: nicht signifikant, *: $p < 0,05$

3.7.1.6 Lymphozytendifferenzierung

Die Differenzierung in die einzelnen Lymphozytensubpopulationen erfolgte durchflusszytometrisch insofern eine ausreichende Anzahl an Lymphozyten in der BAL detektiert wurde. Dies war bei nur wenigen Untersuchungen der Fall. Aufgrund der niedrigen Patientenzahl war daher eine Analyse nach dem Schweregrad der A-, B- und BR-Abstoßung nicht möglich. Es erfolgte nur die Auswertung von therapierelevanter versus nicht-therapierelevanter ACR und A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$.

Das Vorkommen von NK-Zellen, B- und T-Lymphozyten war weder bei einer therapierelevanten ACR noch beim Vergleich zwischen keiner/leichter und schwerer Abstoßung Grad A oder B signifikant unterschiedlich. Die weitere Differenzierung anhand der Oberflächenmerkmale in CD4-, CD8-, CD25- und CD8CD25-positive Zellen erbrachte ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse.

Ergebnisse

Tabelle 9: Zellzahl und –muster der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades der akuten Abstoßung Grad A nach ISHLT 2006 und bezogen auf die Einteilung A0/A1 versus A ≥ 2. Angegeben sind Median und Interquartilsabstand sowie die Anzahl der Untersuchungen in der jeweiligen Gruppe. Das Gesamt-p bezieht sich auf die Varianzanalyse der A-Gradierung für die Zellzahl bzw. Zellen mittels Kruskal-Wallis-Test. Das p bei der Komparation von A0/A1 versus A ≥ 2 wurde mittels Mann-Whitney-U-Test ermittelt. Abkürzungen: n: Anzahl der Untersuchungen, n.s.: nicht signifikant

	A0	A1	A2	A3	Gesamt-p A- Gradierung
Zellzahl (x10³/ml)	114,6 (73,7-166,0) n=202	138,5 (73,0-202,4) n=151	124,3 (59,0-193,7) n=9	371,4 n=1	n.s.
Makrophagen (%)	88,0 (75,0-94,0) n=203	85,0 (71,8-92,0) n=154	68,0 (44,0-94,5) n=9	25,0 n=1	n.s.
Neutrophile (%)	7,0 (2,0-19,0) n=202	5,0 (2,0-16,0) n=153	16,0 (2,0-44,0) n=9	72,0 n=1	n.s.
Eosinophile (%)	0,0 (0,0-0,0) n=203	0,0 (0,0-0,0) n=153	0,0 (0,0-1,5) n=9	0,0 n=1	n.s.
Lymphozyten (%)	3,0 (2,0-6,0) n=203	4,0 (2,0-10,0) n=153	4,0 (3,0-7,0) n=9	3,0 n=1	< 0,05

	A1/A0	A ≥ 2	p
Zellzahl (x10³/ml)	122,1 (73,1-180,0) n=353	135,5 (63,5-256,5) n=10	n.s.
Makrophagen (%)	87,0 (74,0-93,0) n=357	64,5 (32,5-93,8) n=10	n.s.
Neutrophile (%)	6,0 (2,0-19,0) n=355	21,5 (2,5-57,8) n=10	n.s.
Eosinophile (%)	0,0 (0,0-0,0) n=356	0,0 (0,0-1,3) n=10	n.s.
Lymphozyten (%)	4,0 (2,0-7,0) n=156	4,0 (3,0-6,5) n=10	n.s.

Tabelle 10: Zellzahl und –muster der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades der akuten Abstoßung Grad B nach ISHLT 1996 und bezogen auf die Einteilung B0/B1 versus B ≥ 2. Angegeben sind Median und Interquartilsabstand sowie die Anzahl der Untersuchungen in der jeweiligen Gruppe. Das Gesamt-p bezieht sich auf die Varianzanalyse der B-Gradierung für die Zellzahl bzw. Zellen mittels Kruskal-Wallis-Test. Das p bei der Komparation von B0/B1 versus B ≥ 2 wurde mittels Mann-Whitney-U-Test ermittelt. Abkürzungen: n: Anzahl der Untersuchungen, n.s.: nicht signifikant

	B0	B1	B2	B3	Gesamt-p B- Gradierung
Zellzahl (x10³/ml)	111,1 (67,4-168,8) n=237	141,2 (81,6-216,7) n=135	130,6 (67,4-220,0) n=14	371,4 (114,6-720,0) n=5	< 0,01
Makrophagen (%)	88,0 (76,0-93,0) n=237	85,0 (69,0-93,0) n=139	71,5 (44,8-86,8) n=14	25,0 (13,0-77,5) n=5	< 0,01
Neutrophile (%)	5,0 (2,0-15,5) n=237	7,0 (2,0-21,0) n=137	21,5 (7,5-38,5) n=14	72,0 (20,0-87,0) n=5	< 0,01
Eosinophile (%)	0,0 (0,0-0,0) n=237	0,0 (0,0-0,0) n=138	1,0 (0,0-2,3) n=14	0,0 (0,0-0,0) n=5	< 0,001
Lymphozyten (%)	4,0 (2,0-6,0) n=237	3,0 (2,0-7,0) n=138	4,5 (4,0-8,0) n=14	2,0 (0,0-3,0) n=5	n.s.

Ergebnisse

	B0/B1	B ≥ 2	p
Zellzahl (x10³/ml)	122,2 (72,8-179,6) n=372	140,0 (89,2-281,7) n=19	n.s.
Makrophagen (%)	87,0 (74,0-93,0) n=376	68,0 (34,0-85,0) n=19	< 0,01
Neutrophile (%)	6,0 (2,0-18,0) n=374	24,0 (9,0-53,0) n=19	< 0,001
Eosinophile (%)	0,0 (0,0-0,0) n=375	0,0 (0,0-1,0) n=19	< 0,001
Lymphozyten (%)	4,0 (2,0-7,0) n=375	4,0 (3,0-7,0) n=19	n.s.

Tabelle 11: Zellzahl und –muster der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades der akuten Abstoßung Grad BR nach ISHLT 2006. Angegeben sind Median und Interquartilsabstand sowie die Anzahl der Untersuchungen in der jeweiligen Gruppe. Das Gesamt-p bezieht sich auf die Varianzanalyse der BR-Gradierung für die Zellzahl bzw. Zellen mittels Kruskal-Wallis-Test. Abkürzungen: n: Anzahl der Untersuchungen, n.s.: nicht signifikant

	B0	B1R	B2R	Gesamt-p BR-Gradierung
Zellzahl (x10³/ml)	111,1 (67,4-168,8) n=237	140,6 (81,8-217,0) n=146	371,4 (114,6-720,0) n=5	< 0,001
Makrophagen (%)	88,0 (76,0-93,0) n=237	83,5 (68,0-92,0) n=150	25,0 (13,0-77,5) n=5	< 0,01
Neutrophile (%)	5,0 (2,0-15,5) n=237	9,0 (2,0-24,0) n=148	72,0 (20,0-87,0) n=5	< 0,01
Eosinophile (%)	0,0 (0,0-0,0) n=237	0,0 (0,0-0,0) n=149	0,0 (0,0-0,0) n=5	n.s.
Lymphozyten (%)	4,0 (2,0-6,0) n=237	4,0 (2,0-7,0) n=149	2,0 (0,0-3,0) n=5	n.s.

3.7.2 Zytokinmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR

Die Bestimmung der Zytokine IL-1 β , IL-8, IL-10, IL-17 sowie MIP-1 α aus der bronchoalveolären Lavage lungentransplantierten Patienten war ein wesentlicher Bestandteil dieser Studie. Hauptaugenmerk lag dabei in der Betrachtung, ob und inwiefern sich die Konzentrationen o.g. Zytokine bei Patienten mit akuter zellulärer Abstoßung verändern. Darüber hinaus wurde im Anschluss geprüft, ob bestimmte Zytokine bei den wichtigsten Differentialdiagnosen der akuten Abstoßung, der Infektion und dem BOS, ein anderes Verhalten hinsichtlich ihrer Konzentrationsveränderung aufweisen. Zur Beurteilung der ZytokinKonzentration bei akuter Abstoßung und BOS wurden diejenigen Patienten exkludiert, bei denen zum Zeitpunkt der Untersuchung eine Infektion vorlag. Als Infektion wurden die bakterielle und mykotische Pneumonie, die symptomatische virale Infektion und die CMV-Pneumonitis gewertet (siehe unter 3.7).

3.7.2.1 Interleukin-1 β

Bei 212 Untersuchungen (therapierelevante ACR (n = 33), nicht-therapierelevante ACR (n = 179)) war die Durchführung der IL-1 β -Messung aufgrund unzureichenden Materials nicht möglich. Zudem konnte aufgrund der niedrigen Fallzahl keine Varianzanalyse der A-Gradierung erfolgen.

3.7.2.1.1 Akute zelluläre Abstoßung

Die Konzentration von IL-1 β unterschied sich bei Vorliegen einer therapierelevanten ACR nicht von der einer nicht-therapierelevanten ACR. Auch die Unterteilung in die einzelnen Schweregrade der akuten Abstoßung konnte keinen nennenswerten Zusammenhang zwischen der Konzentration an IL-1 β in der BAL und dem Schweregrad der Abstoßung ermitteln (Abbildung 28).

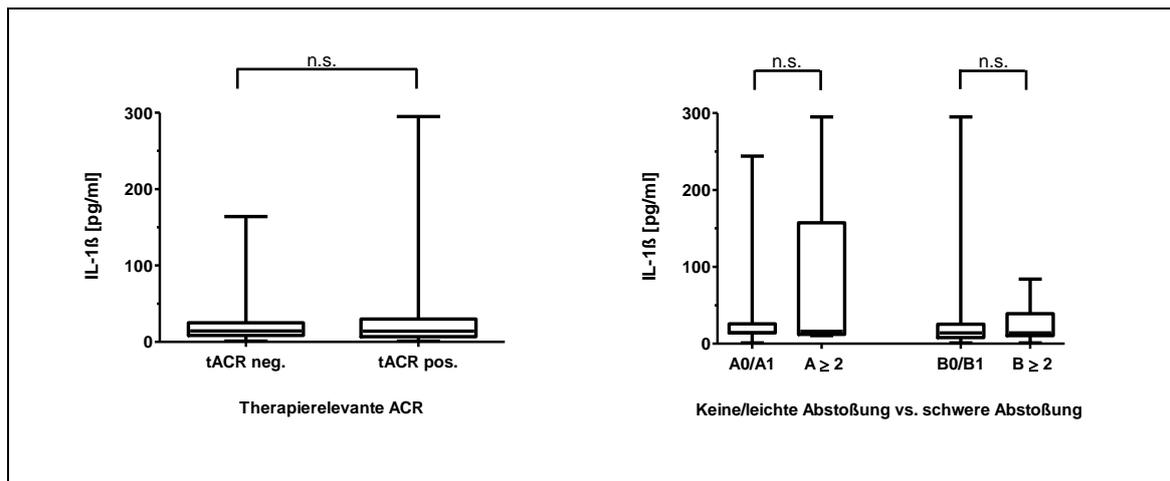


Abbildung 28: Konzentration von IL-1 β in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR (links) und A0/A1 bzw. B0/B1 versus A \geq 2 bzw. B \geq 2 (rechts). Die IL-1 β -Konzentration änderte sich bei Vorliegen einer akuten Abstoßungsreaktion nicht. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum. n.s.: nicht signifikant. Abkürzungen: tACR: therapierelevante akute zelluläre Abstoßung

3.7.2.1.2 Infektion

Zwischen der Konzentration an IL-1 β in der BAL und dem Vorliegen einer Infektion ergab sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang ($p = n.s.$).

3.7.2.1.3 Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

Patienten mit BOS unterschieden sich in der IL-1 β -Konzentration nicht von Patienten ohne BOS (p = n.s.).

3.7.2.2 Interleukin-8

Bei 212 Untersuchungen (therapierelevante ACR (n = 33), nicht-therapierelevante ACR (n = 179)) war die Durchführung der IL-8-Messung aufgrund unzureichenden Materials nicht möglich. Zudem konnte aufgrund der niedrigen Fallzahl keine Varianzanalyse der A-Gradierung erfolgen.

3.7.2.2.1 Akute zelluläre Abstoßung

Die Konzentration von IL-8 in der bronchoalveolären Lavage zeigte im Vergleich von Patienten mit und ohne therapierrelevanter ACR keinen signifikanten Unterschied (p = n.s.). Der Median bei therapierrelevanter ACR lag bei 479,0 (37,9, 143,8–1000,3, 2000,0) pg/ml, der Median ohne therapierrelevante ACR bei 387,0 (16,0, 142,5–875,5, 14640,0) pg/ml. Die genauere Betrachtung der akuten Abstoßung Grad B bzw. BR erbrachte kein signifikantes Ergebnis hinsichtlich einer unterschiedlichen Konzentration von IL-8 in der BAL, wenngleich die IL-8-Konzentration mit zunehmender Schwere der Abstoßung steigend war. Deutlich wurde der Konzentrationsanstieg insbesondere beim Vergleich von keiner/leichter und schwerer Grad B-Abstoßung, hier war der Konzentrationsunterschied signifikant (p < 0,05) (Abbildung 29 und Tabelle 12).

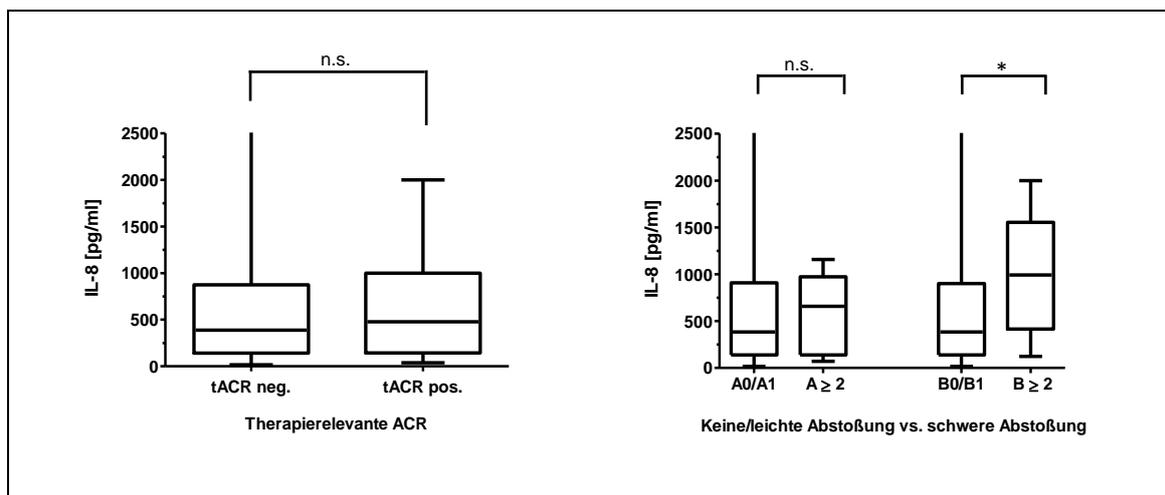


Abbildung 29: Konzentration von IL-8 in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR (links) und A0/A1 bzw. B0/B1 versus A ≥ 2 bzw. B ≥ 2 (rechts). Die IL-8-Konzentration war bei einer schweren B-Abstoßung (B ≥ 2) signifikant höher als bei keiner/leichter B-Abstoßung (B0/B1). Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum. n.s.: nicht signifikant, *: p < 0,05. Abkürzungen: tACR: therapierelevante akute zelluläre Abstoßung

Tabelle 12: Konzentration von IL-8 in der bronchoalveolären Lavage gemäß des Schweregrades der akuten Abstoßung Grad B nach ISHLT 1996 und bezogen auf die Einteilung B0/B1 versus B ≥ 2. Angegeben sind Median und Interquartilsabstand sowie die Anzahl der Untersuchungen in der jeweiligen Gruppe. Das Gesamt-p bezieht sich auf die Varianzanalyse der B-Gradierung für IL-8 mittels Kruskal-Wallis-Test. Das p bei der Komparation von B0/B1 versus B ≥ 2 wurde mittels Mann-Whitney-U-Test ermittelt. Abkürzungen: n: Anzahl der Untersuchungen, n.s.: nicht signifikant

	B0	B1	B2	B3	Gesamt-p B-Gradierung
IL-8 (pg/ml)	390,0 (155,0-851,2) n=107	379,5 (120,8-925,0) n=70	988,0 (288,5-1469,0) n=24	1417,0 (922,0-1842,0) n=2	n.s.

	B0/B1	B ≥ 2	p
IL-8 (pg/ml)	385,0 (138,0-902,0) n=177	992,0 (416,0-1553,0) n=11	< 0,05

3.7.2.2.2 Infektion

Die Konzentration von IL-8 in der bronchoalveolären Lavage war bei Patienten mit Infektion signifikant höher als bei Patienten ohne Infektion (p < 0,01) (Abbildung 30).

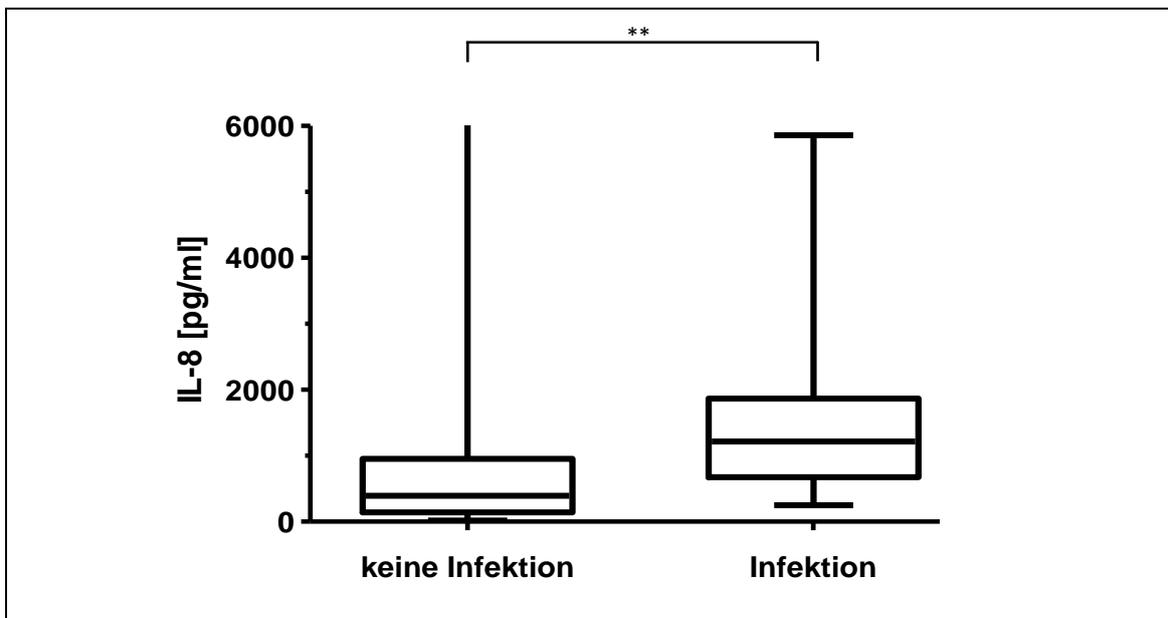


Abbildung 30: Konzentration von IL-8 in der bronchoalveolären Lavage bei Vorliegen einer Infektion. Die IL-8-Konzentration war bei Vorliegen einer Infektion signifikant höher als ohne Vorliegen einer Infektion. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum. **: $p < 0,01$

3.7.2.2.3 Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

Das Vorliegen eines BOS führte nicht zu einer relevanten Zu- oder Abnahme der IL-8-Konzentration in der BAL ($p = n.s.$).

3.7.2.3 Interleukin-10

Bei 211 Untersuchungen (therapierelevante ACR ($n = 32$), nicht-therapierelevante ACR ($n = 179$)) war die Durchführung der IL-10-Messung aufgrund unzureichenden Materials nicht möglich. Zudem konnte aufgrund der niedrigen Fallzahl keine Varianzanalyse der A-Gradierung erfolgen.

3.7.2.3.1 Akute zelluläre Abstoßung

Patienten mit therapierelevanter ACR hatten im Vergleich zu Patienten ohne therapierelevante ACR keinen signifikanten Konzentrationsunterschied an IL-10 in der bronchoalveolären Lavage (1,1 (1,0, 1,0–9,3, 41,4) pg/ml und 4,8 (1,0, 1,0–11,6, 100,0) pg/ml). Auch die differenzierte Betrachtung der Grad B- bzw. BR-Abstoßung oder die Unterscheidung zwischen keiner/leichter und schwerer Abstoßung erbrachte kein signifikantes Ergebnis bezüglich einer unterschiedlichen Konzentration an IL-10 in der BAL (Abbildung 31).

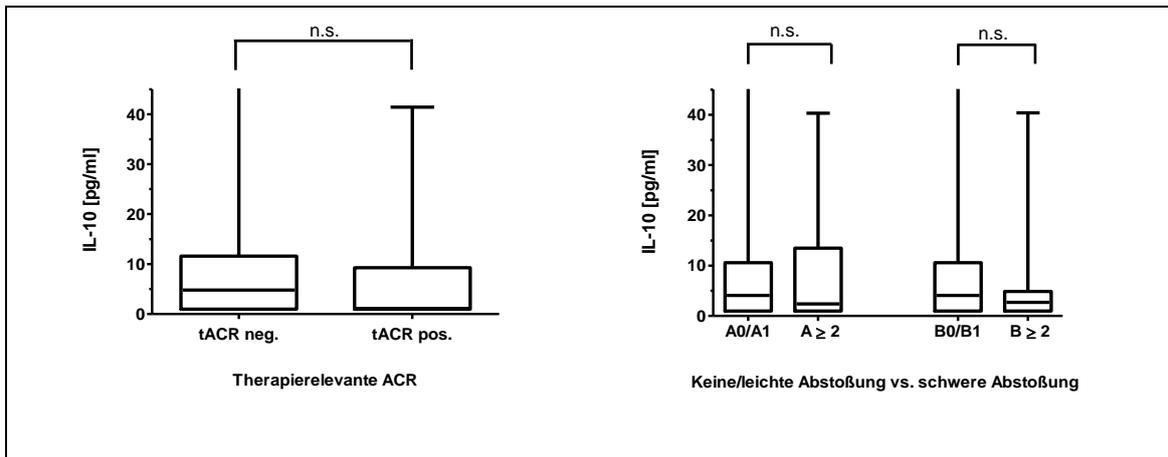


Abbildung 31: Konzentration von IL-10 in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR (links) und A0/A1 bzw. B0/B1 versus $A \geq 2$ bzw. $B \geq 2$ (rechts). Die IL-10-Konzentration änderte sich bei Vorliegen einer akuten Abstoßungsreaktion nicht. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum. n.s.: nicht signifikant. Abkürzungen: tACR: therapierelevante akute zelluläre Abstoßung

3.7.2.3.2 Infektion

Die Konzentration an IL-10 in der BAL unterschied sich nicht signifikant zwischen Patienten mit und ohne Infektion ($p = n.s.$).

3.7.2.3.3 Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

Bei Patienten mit BOS war die Konzentration von IL-10 in der BAL signifikant niedriger als bei Patienten ohne BOS ($p < 0,05$) (Abbildung 32).

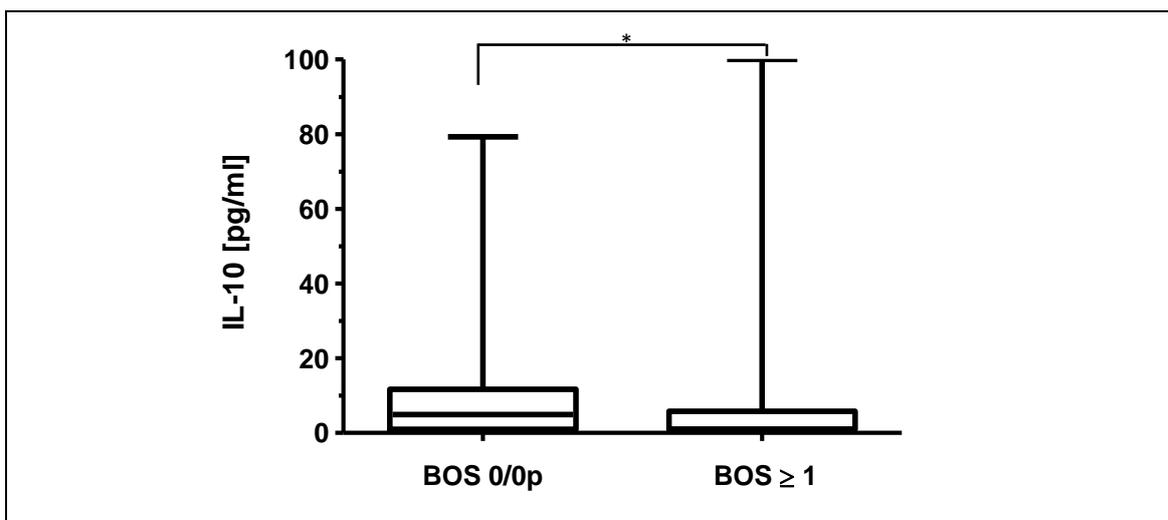


Abbildung 32: Konzentration von IL-10 in der bronchoalveolären Lavage bei Vorliegen eines Bronchiolitis-Obliterans-Syndroms. Die IL-10-Konzentration war bei Vorliegen eines BOS signifikant niedriger als ohne Vorliegen eines BOS. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum. *: $p < 0,05$. Abkürzungen: BOS: Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

3.7.2.4 Interleukin-17

Bei 211 Untersuchungen (therapierelevante ACR (n = 32), nicht-therapierelevante ACR (n = 179)) war die Durchführung der IL-17-Messung aufgrund unzureichenden Materials nicht möglich. Zudem konnte aufgrund der niedrigen Fallzahl keine Varianzanalyse der A-Gradierung erfolgen.

3.7.2.4.1 Akute zelluläre Abstoßung

IL-17 zeigte keinen Zusammenhang zwischen einer Konzentrationsveränderung und dem Vorliegen einer therapierelevanten ACR oder B- bzw. BR-Abstoßung. Auch war die IL-17-Konzentration kein Prädiktor zum Nachweis einer schweren Grad A- oder B-Abstoßung (Abbildung 33).

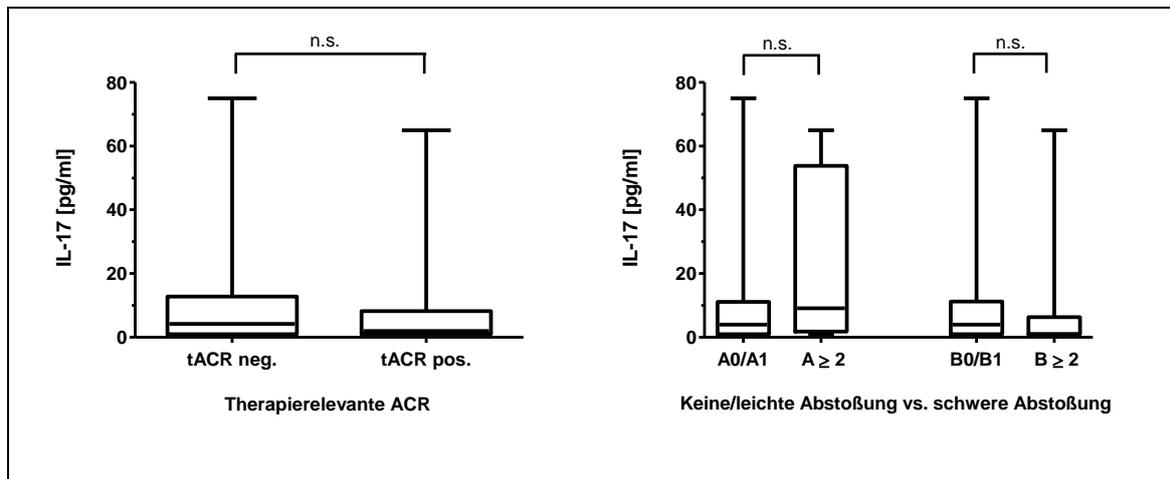


Abbildung 33: Konzentration von IL-17 in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR (links) und A0/A1 bzw. B0/B1 versus A ≥ 2 bzw. B ≥ 2 (rechts). Die IL-17-Konzentration änderte sich bei Vorliegen einer akuten Abstoßungsreaktion nicht. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum. n.s.: nicht signifikant. Abkürzungen: tACR: therapierelevante akute zelluläre Abstoßung

3.7.2.4.2 Infektion

Zwischen der Konzentration an IL-17 und dem Vorhandensein einer Infektion ließ sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang eruieren ($p = n.s.$).

3.7.2.4.3 Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

Ebenso gab es bei Patienten mit BOS keine Beziehung zur IL-17-Konzentration in der BAL ($p = n.s.$).

3.7.2.5 MIP-1 α

Bei 210 Untersuchungen (therapierelevante ACR (n = 32), nicht-therapierelevante ACR (n = 178)) war die Durchführung der MIP-1 α -Messung aufgrund unzureichenden Materials nicht möglich. Zudem konnte aufgrund der niedrigen Fallzahl keine Varianzanalyse der A-Gradierung erfolgen.

3.7.2.5.1 Akute zelluläre Abstoßung

Zwischen Patienten mit und ohne therapierelevanter ACR ließ sich kein Unterschied in der Konzentration an MIP-1 α in der BAL feststellen. Auch die Betrachtung der akuten B- bzw. BR-Abstoßung war ohne signifikantes Ergebnis hinsichtlich der MIP-1 α -Konzentration in der BAL (Abbildung 34).

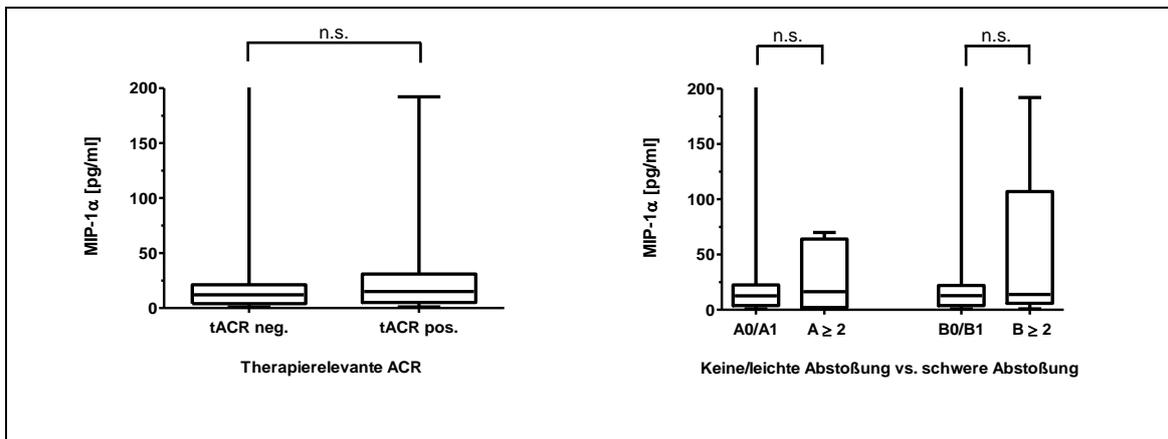


Abbildung 34: Konzentration von MIP-1 α in der bronchoalveolären Lavage bezogen auf die Einteilung therapierelevante versus nicht-therapierelevante ACR (links) und A0/A1 bzw. B0/B1 versus A \geq 2 bzw. B \geq 2 (rechts). Die MIP-1 α -Konzentration änderte sich bei Vorliegen einer akuten Abstoßungsreaktion nicht. Dargestellt sind Median, Interquartilsabstand, Minimum und Maximum. n.s.: nicht signifikant. Abkürzungen: tACR: therapierelevante akute zelluläre Abstoßung

3.7.2.5.2 Infektion

Kein Zusammenhang bestand zwischen der Höhe der MIP-1 α -Konzentration in der BAL und dem Vorliegen einer Infektion (p = n.s.).

3.7.2.5.3 Bronchiolitis-Obliterans-Syndrom

Die MIP-1 α -Konzentration war kein Prädiktor für das Vorliegen eines BOS (p = n.s.).

4. Diskussion

4.1 Einführung

Die einzige kurative Therapieoption im Endstadium einer Lungenerkrankung ist die Lungentransplantation. Neben dem komplexen Prozess der Vorbereitung und Durchführung ist das Outcome wesentlich von möglichen Komplikationen in der Zeit nach Transplantation abhängig. Zu den häufigsten Komplikationen zählen Infektionen und verschiedene Typen des Transplantatversagens (14). Das mediane Überleben nach Lungentransplantation ist gegenüber anderen Organtransplantationen vergleichsweise niedrig (17), einer der Hauptgründe und führende Todesursache ist die chronische Transplantatdysfunktion (14). In diversen Studien wurden mehrere Risikofaktoren für die Entwicklung einer CLAD identifiziert; maßgeblicher Risikofaktor ist die akute Transplantatabstoßung (130, 152, 177, 182, 199, 200, 238). Die ACN selbst nimmt wegen ihrer Bedeutsamkeit als häufig auftretende Komplikation einerseits und der indirekten Beeinflussung des Langzeitoutcomes andererseits eine entscheidende Rolle nach Transplantation ein.

Im Jahr 2017 lag das UKGM Gießen mit elf durchgeführten Lungentransplantationen an sechster Stelle aller Transplantationszentren Deutschlands (239). Die vorliegende Arbeit befasste sich mit mehreren Teilaspekten der Lungentransplantation an hiesigem Zentrum. In die Studie wurden 89 Patienten eingeschlossen, die zwischen 2004 und 2017 transplantiert wurden. Die Datenakquise erfolgte über einen Zeitraum von ca. 4,5 Jahren (Februar 2013 bis September 2017). Insgesamt wurden in diesem Intervall 450 Bronchoskopien durchgeführt und zu jedem Untersuchungszeitpunkt die für diese Studie relevanten Daten erhoben. Neben der Deskription des Patientenkollektivs unter besonderer Berücksichtigung der Infektion und akuten Transplantatabstoßung, sollte in dieser Arbeit unter anderem der Risikofaktor Infektion in Bezug auf die Auftretenswahrscheinlichkeit einer ACN genauer identifiziert werden.

Hinsichtlich der Diagnostik einer akuten Transplantatabstoßung ist die histopathologische Begutachtung transbronchialer Biopsien weiterhin Goldstandard (148). Die Entnahme transbronchialer Biopsien ist jedoch mit potentiellen Risiken assoziiert und darüber hinaus bei einigen Patienten aufgrund einer schweren körperlichen Leistungseinschränkung nicht durchführbar. Mehrere Studien konnten zudem eine unterschiedlich hohe Inter- und Intraobserver-Variabilität bei der Beurteilung transbronchialer Biopsien nachweisen (150, 156–159).

Hinzu kommen diverse Störfaktoren und die unsichere Datenlage, ab welchem histologischen Schweregrad einer ACR mit einer entsprechenden Therapie begonnen werden soll (129).

Anderweitige diagnostische Strategien sind bisher wenig etabliert. Ein weiterer Teil der Arbeit fokussierte sich daher auf alternative bzw. ergänzende Möglichkeiten hinsichtlich der Diagnostik einer akuten Transplantatabstoßung. Hierzu wurde die Zusammensetzung der bronchoalveolären Lavage (Zellzahl und –differenzierung sowie Zytokine) bei Vorliegen einer akuten Abstoßung analysiert und mit der ohne einer akuten Abstoßung verglichen. Ergänzend wurde die Konzentration an Zytokinen in der BAL bei Vorliegen einer Infektion bzw. BOS bestimmt, da dies die wichtigsten Differentialdiagnosen der ACR darstellen. Im Folgenden wird auf genannte Punkte genauer eingegangen.

4.2 Demographie

4.2.1 Transplantationsindikation

Bei den 89 untersuchten Patienten dieser Studie war die häufigste Indikation zur Lungentransplantation die Gruppe der interstitiellen Lungenerkrankungen mit 57,3%, gefolgt von Patienten mit COPD/Lungenemphysem mit 20,2% und Patienten mit CF mit 13,4% sowie Patienten mit PAH (3,4%), seltenen Lungenerkrankungen (pulmonale Histozytosis X und Lymphangiomyomatose) (3,4%) und AAT-Mangel (2,3%) in absteigender Reihenfolge. Im Vergleich zum internationalen Jahresbericht der ISHLT aus 2017, in welchem die COPD/Lungenemphysem mit 31% als Hauptindikation zur Transplantation angegeben wird und knapp vor der Gruppe der interstitiellen Lungenerkrankungen (30,3%) liegt, war die ILD in unserer Studie deutlich häufiger vertreten. Die selteneren Indikationsgruppen entsprachen in der Häufigkeit in etwa den Angaben der ISHLT (14). Die Diskrepanz der Häufigkeitsverteilung der beiden Hauptindikationsgruppen zwischen unserem Zentrum und dem ISHLT-Register lässt sich durch mehrere Faktoren erklären. Die ISHLT ist ein internationales Register, bezieht sich auf wesentlich höhere Fallzahlen ($n > 50.000$) und eine deutlich längere Zeitspanne (1995-2016) und berücksichtigt sowohl lebende als auch verstorbene Transplantierte (14). Im Gegensatz dazu beziehen sich die Daten des UKGM Gießens auf ein einziges Zentrum, niedrigere Fallzahlen ($n = 89$), eine kürzere Zeitspanne (2004-2017) und berücksichtigen ausschließlich zum Zeitpunkt der Studie noch lebende Patienten. Von besonderer Bedeutung ist in diesem Zusammenhang die Zeitspanne, da sich das

Indikationsspektrum unter Anwendung des 2005 in den USA und 2011 in Deutschland eingeführten LAS, der das geschätzte Mortalitätsrisiko auf der Warteliste und die prognostizierte Überlebenswahrscheinlichkeit nach Transplantation berechnet, signifikant in Richtung interstitieller Lungenerkrankung verschoben hat (31, 33). Dieser Trend ist auch an den jüngsten Daten des ISHLT-Registers zu erkennen (16, 62). Der *Organ Procurement and Transplantation Network (OPTN)/Scientific Registry of Transplant Recipients (SRTR) 2015 Annual Data Report* von über 2000 Transplantationen in den USA gibt ähnliche Zahlen bezüglich der Indikation zur Lungentransplantation wie das UKGM Gießen an (restriktive Lungenerkrankungen 57,9%, obstruktive Lungenerkrankungen 27,5%, CF 11%, pulmonal-vaskuläre Erkrankungen (v.a. PAH) 3,5%) (240). Gottlieb et al. berichten über komparable Zahlen aus Deutschland: 2014 war die Gruppe restriktiver Lungenerkrankungen mit knapp 50% führende Indikation, obstruktive Lungenerkrankungen lagen mit etwa 30% an zweiter Stelle (35). Daten aus größeren Transplantationszentren Deutschlands wie beispielsweise München entsprechen im Wesentlichen denen des UKGM Gießens, wobei in München ein relativ großer Anteil an CF-Patienten transplantiert wird (241). Die *Munich Lung Transplant Group* legt in ihrem 5-Jahresbericht Daten von 63 Transplantierten aus dem Jahr 2016 dar, häufigste Transplantationsindikation war die ILD mit 54%, gefolgt von COPD und CF mit jeweils knapp 20% (241). Insgesamt sind unsere Daten zur LTX-Indikationsstellung im Wesentlichen mit anderen publizierten Studien vergleichbar. Der Anteil lungentransplantierte Patienten mit ILD hat seit Implementierung des LAS kontinuierlich zugenommen und ist aufgrund der schlechten Prognose ohne Transplantation nun führende Transplantationsindikation.

4.2.2 Transplantationsverfahren

Von dem Studienkollektiv erhielten 93,3% der Patienten eine Doppellungentransplantation, wohingegen nur 6,7% eine Einzellungentransplantation erhielten. Im Vergleich mit nationalen und internationalen Daten ist der Anteil an SLTX relativ niedrig, wobei hier sicherlich die geringere Fallzahl eine entscheidende Rolle spielt. Valapour et al. berichten im *OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report* aus den Jahren 2010 und 2015 über eine Verteilung von etwa 70% zu 30% zugunsten der DLTX (240). Ähnliche Zahlen liefert eine Studie von 278 Patienten über einen Zeitraum von 24 Jahren (1990-2014) aus einem der beiden Transplantationszentren Schwedens. Eine DLTX wurde hier in 64%, eine SLTX in 36% der Fälle durchgeführt (242). Bei der *Munich Lung Transplant Group* liegt der Anteil an DLTX in etwa bei 70% aller Lungentransplantationen (243). In einer Übersichtsarbeit von Gottlieb et al. lag der Anteil

einseitig Lungentransplantierte in Deutschland in den Jahren 2009-2014 bei 13,9 %, der Anteil beidseitig Lungentransplantierte bei 86,1 % (33). Anzumerken ist, dass bei stetig steigender Anzahl an Gesamtlungentransplantationen die absolute Zahl an SLTX seit dem Jahr 2000 im Wesentlichen gleichbleibend ist, während sich die Zahl der DLTX in etwa gleichem Ausmaße wie die Zahl der Gesamtlungentransplantationen erhöht hat. So lag die Verteilung von DLTX und SLTX im Jahr 2000 noch bei jeweils 50 %, im Jahr 2015 bereits bei 75 % bzw. 25 % (62). In mehreren Studien konnte ein eindeutiger Überlebensvorteil von DLTX gegenüber SLTX nachgewiesen werden (62, 240–242). Gründe für ein schlechteres Outcome nach SLTX sind u. a. eine reduzierte pulmonale Funktion (abhängig von der Transplantationsindikation insbesondere bei COPD) und die damit verbundene niedrigere Toleranz gegenüber Komplikationen wie beispielsweise einer Transplantatdysfunktion (244). Zudem können Infektionen, die in der nativen Lunge entstehen, auf das Transplantat übergehen. Nicht selten kommt es in der verbliebenen Lunge zu weiteren Komplikationen, die durch die Grunderkrankung selbst bedingt sind (z. B. Pneumothorax), im schlimmsten Fall zu einem Lungenkarzinom, dessen Inzidenz bei SLTX-Patienten mit Emphysem deutlich höher als bei DLTX-Patienten liegt (245). Einige Studien berichten zudem über eine höhere Inzidenz von CLAD bei SLTX-Patienten (246–249). Die genannten Punkte unterstützen die Entwicklung hin zu häufigeren Doppellungentransplantationen. Anzumerken ist jedoch, dass wesentliche Grundvoraussetzungen wie Indikation, Alter und LAS von SLTX- und DLTX-Patienten zum Teil erheblich variieren (241, 250), so dass letztlich ein Einfluss dieser Faktoren auf das Gesamtergebn nicht ganz auszuschließen ist. Hinzu kommt die Tatsache, dass eine Einzellungentransplantation im Zeitalter zunehmender Organknappheit mehr Empfängern eine Organallokation ermöglicht. Beide Verfahren haben also, sorgfältige Patientenselektion vorausgesetzt, ihren berechtigten Stellenwert.

4.2.3 Transplantationsalter

Vor dem Hintergrund der Entwicklungen der letzten Jahre ist auch die Betrachtung der Altersstruktur der Transplantierten interessant. Im Studienkollektiv betrug das mediane Transplantationsalter 57 Jahre; über 70 % wurden in einem Alter über 50 Jahre transplantiert, etwa 33 % in einem Alter über 60 Jahre. Diese Zahlen sind vergleichbar mit Daten aus den USA. Egan et al. beschreiben eine deutliche Zunahme der Transplantierten im Alter zwischen 50 und 64 Jahre sowie insbesondere der Patienten über 65 Jahre seit Einführung des LAS (31). Im *OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report* lag der Anteil von transplantierten Patienten über 50 Jahre bei 76 %, der Anteil von Patienten über 65 Jahre bei knapp 30 % (240). Dieser Trend ist auch aus Daten des

ISHLT zu entnehmen. Das mediane Transplantationsalter stieg von 45 Jahre in der Periode 1985 bis 1989 kontinuierlich auf 55 Jahre in der Periode 2006 bis 2012 an (251). Einer der Gründe ist die höhere Prävalenz von Erkrankungen im Alter, insbesondere der idiopathischen pulmonalen Fibrose (*idiopathic pulmonary fibrosis*, IPF) mit der höchsten Prävalenz bei den über 65-Jährigen (252). Hinzu kommt, dass die Inzidenz der IPF bei älteren Patienten stetig ansteigend ist (253). Da die interstitiellen Lungenerkrankungen mittlerweile führende Transplantationsindikation sind (siehe unter 4.2.1), sind die Veränderungen der Altersstruktur der Transplantierten zum Teil hiermit erklärbar. Gleichzeitig gibt es deutliche Fortschritte in Früherkennung, Verlaufsbeobachtung und Therapie von chronischen Erkrankungen, so dass eine Lungentransplantation hinausgezögert werden kann. Mit Einführung des LAS, der zum einen das Alter selbst berücksichtigt, zum anderen Erkrankungen mit hoher Mortalitätsrate priorisiert, kam es zu einem weiteren Anstieg des Transplantationsalters (31). Mehrere Studien untersuchten das Outcome nach Lungentransplantation älterer Patienten. Hayanga et al. analysierten Daten von 4870 LTX-Patienten über einen Zeitraum von sechs Jahren (2006-2012). Während das Überleben von Patienten im Alter zwischen 60 und 69 bzw. 70 und 79 in der unmittelbaren Posttransplantperiode (30 Tage, 3 Monate, 1 Jahr) keine wesentlichen Unterschiede zeigte, waren die Langzeitüberlebensraten für Patienten über 70 Jahre deutlich schlechter (63,7% vs. 49,3% nach drei Jahren; 47,5% vs. 28,2% nach fünf Jahren) (254). Wie mit der steigenden Zahl an älter werdenden Transplantatempfängern, insbesondere vor dem Hintergrund des schlechteren Langzeitüberlebens und der weiterhin bestehenden Organknappheit umzugehen ist, ist aktuell Gegenstand kontroverser Diskussionen und macht eine sorgfältige Patientenselektion umso wichtiger.

4.3 Infektionen

Eine der häufigsten Komplikationen nach einer Lungentransplantation sind Infektionen unterschiedlicher Art. Im ersten Jahr nach Transplantation sind Infektionen mit knapp 37% für die meisten Todesfälle verantwortlich, anschließend treten sie mit 20% an zweite Stelle der Todesursachenstatistik (14). Respiratorische Infektionen sind mit Abstand am häufigsten (104). Problematisch bei der Erfassung von Infektionen lungentransplantierte Patienten ist, dass bisher keine standardisierte internationale Definition derselben existiert, so dass Vergleiche von Typen und Inzidenzen von Infektionen zwischen verschiedenen Zentren nahezu unmöglich sind (234). Die Definitionen, die für dieses Studienkollektiv entwickelt und angewandt wurden (siehe

unter 2.2.5.1) orientieren sich an Empfehlungen eines Expertenkonsens der ISHLT (234), der AST (235) und dem *CMV Drug Development Forum* (236).

4.3.1 Bakterielle Infektionen

Bei den 89 Patienten des Studienkollektivs wurden 446 Bronchoskopien mit Beurteilung der Mikrobiologie durchgeführt. Eine bakterielle Pneumonie wurde bei knapp 4% der Untersuchungen diagnostiziert, eine bakterielle Tracheobronchitis in 13% der Fälle. Häufigster Erreger war *Pseudomonas aeruginosa* (27% der Fälle). Durch die Heterogenität der vorhandenen Studien sind Vergleiche mit dem Studienkollektiv des UKGM schwierig. Hinzu kommt, dass die Datenlage bezüglich bakterieller respiratorischer Infektionen insgesamt sehr limitiert ist. In einer prospektiven multizentrischen Studie an 236 LTX-Patienten in Spanien wurden über einen Beobachtungszeitraum von zwei Jahren und einem medianen Follow-up von 180 Tagen insgesamt 85 Episoden einer Pneumonie beschrieben; mit 82,7% war die bakterielle Pneumonie am häufigsten (106). Es wurde eine globale Inzidenz von 72 Pneumonieepisoden/100 Lungentransplantationen/Jahr angegeben. Häufigster Erreger war ebenfalls *Pseudomonas aeruginosa* (106). Die genaue Definition der Pneumonie ist in dieser Studie nicht konsistent nachvollziehbar. Die Mikrobiologie wurde sowohl aus Sputumproben, peripheren Blutkulturen als auch aus Bronchoskopien gewonnen. Nahezu alle Bronchoskopien erfolgten aus klinischer Indikation (zwei der fünf teilnehmenden Zentren führten eine Routinebronchoskopie drei Wochen nach Transplantation durch). Die genaue Anzahl der Bronchoskopien der Studie ist nicht dokumentiert. Lehto et al. untersuchten 40 LTX- und HLTX-Patienten in einem Zeitraum von acht Jahren bezüglich der diagnostischen Ausbeute einer Bronchoskopie bei respiratorischen Infektionen (255). Insgesamt wurden 472 Bronchoskopien durchgeführt, 190 aus klinischer Indikation und 282 als Routinebronchoskopie. Ein Bakteriennachweis wurde bei passender Klinik, Mikrobiologie und Radiologie oder purulentem Sputum und/oder bronchoskopischen Zeichen einer Bronchitis als klinisch signifikant bewertet. Bezogen auf die Gesamtzahl der Bronchoskopien lag eine bakterielle Infektion in 14% der Fälle vor (zwischen Pneumonie und Tracheobronchitis wurde nicht unterschieden), bei alleiniger Betrachtung der klinisch-indizierten Bronchoskopien in 30% der Fälle und bei allen Routinebronchoskopien in 3% der Fälle (255). In einer retrospektiven Studie von Parada et al. wurden 51 LTX-Patienten über einen Zeitraum von etwa neun Jahren untersucht. In diesem Zeitraum wurden 34 respiratorische bakterielle Infektionen detektiert (107), die genaue Definition einer Infektion ist nicht dokumentiert. Häufigster Erreger war auch hier *Pseudomonas*

aeruginosa (35% Fälle) (107). Wie in den meisten Studien trat der Großteil der Infektionen innerhalb der ersten sechs Monate nach Transplantation auf (106, 107, 255). Eine koreanische Studie von Yun et al. untersuchte 34 LTX- und HLTX-Patienten über einen Zeitraum von sechs Jahren hinsichtlich des Auftretens von Infektionen, die Definitionen einer Infektion basierten auf Empfehlungen der ATS: in genanntem Untersuchungszeitraum kam es zu insgesamt 18 Episoden einer bakteriellen Pneumonie (108). Anhand der aufgeführten Studien ist ersichtlich, dass Vergleiche aufgrund unterschiedlicher Studiendesigns, heterogener Definition einer Infektion und zentrumsspezifischen Surveillanceprogrammen kaum möglich sind. So beschreiben Speich et al. in einem Review Inzidenzen bakterieller Pneumonien zwischen 35% und 66% (256).

Die Rate an bakteriellen Pneumonien des Studienkollektivs erscheint im Vergleich mit anderen Studien relativ niedrig. Unterschiedliche Gründe könnten hierbei eine Rolle spielen. Die Intention dieser Studie zielte nicht auf die epidemiologische Erfassung von Infektionen einer LTX-Population, sondern registrierte die Rate an Infektionen anhand bronchoskopischer Untersuchungen, die primär zum Zwecke der Abstoßungsdiagnostik durchgeführt wurden. So ist es aufgrund des engmaschigen Surveillanceprogrammes (siehe unter 2.2.1) nicht verwunderlich, dass der Anteil an Routinebronchoskopien des Studienkollektivs bei 81% (361/446) lag, während der Anteil an klinisch-indizierten Bronchoskopien lediglich 19% (85/446) ausmachte. In oben genannten Studien war letztgenannter Anteil wesentlich höher, was die höhere Ausbeute an Infektionen erklären dürfte. Des Weiteren standen Ergebnisse von bronchoskopischen Untersuchungen, die auf *Intermediate Care* (IMC) oder Intensivstation durchgeführt wurden, für diese Studie zumeist nicht zur Verfügung. Zudem wurde bei unserem Studienkollektiv im Vergleich zu o.g. Studien (sofern die Information verfügbar war) die antibiotische, postoperative Prophylaxe in der Regel deutlich länger durchgeführt. Da in der Studie von Aguilar-Guisado et al. gerade in der unmittelbaren Posttransplantperiode (innerhalb des ersten Monats) die Anzahl an detektierten Pneumonien mit fast 50% aller erfassten Pneumonien weitaus am höchsten lag (106), ist die Dauer der postoperativen Antibiotikaphylaxe als weiterer Grund für die unterschiedlichen Inzidenzen zu sehen. Zudem wird die Indikation zur Bronchoskopie bei vermutetem Infekt am UKGM Gießen grundsätzlich eher restriktiv gestellt und häufig erst bei persistierender Symptomatik durchgeführt; zum Zeitpunkt der Bronchoskopie wurde dann zumeist bereits eine antibiotische Vorbehandlung durchgeführt. Einen weiteren Einfluss auf die Höhe der Pneumonieinzidenz könnte die Gabe von Azithromycin haben. Am UKGM Gießen wird die CLAD-Prophylaxe von Beginn an bei jedem LTX-Patienten durchgeführt, während Azithromycin in keiner der o.g. Studien verabreicht wurde (106–108, 255). Ein gewisser

protektiver Effekt auf Azithromycin-empfindliche Pneumonieerreger ist daher nicht auszuschließen. Eine Unterteilung in frühe und späte Pneumonien, wie in den meisten Studien herausgearbeitet wurde, erfolgte in dieser Studie nicht.

4.3.2 Mykotische Infektionen

Im Beobachtungszeitraum von 4,5 Jahren wurde eine Pilzpneumonie bei dem Studienkollektiv nur ein einziges Mal nachgewiesen, eine Tracheobronchitis lag bei knapp 1% (n = 4) der bronchoskopischen Untersuchungen vor. Erreger waren in allen Tracheobronchitis-Fällen *Aspergillus spp.* (*Aspergillus fumigatus* = 3, *Aspergillus flavus* = 1). Bei 12,2% (n = 54) der Untersuchungen fand sich eine Kolonisation der Atemwege durch Pilze. Erreger waren in absteigender Reihenfolge *Candida spp.* (68,5%, n = 37), *Aspergillus spp.* (24,1%, n = 13), beide Spezies gemeinsam (5,5%, n = 3) und *Neurospora crassa* (1,9%, n = 1). Solé et al. dokumentierten in ihrer retrospektiven Studie zur Erfassung von *Aspergillus*-Infektionen bei 251 LTX- und HLTX-Patienten über einen Zeitraum von 13 Jahren insgesamt 86 Fälle einer Aspergillose; hiervon 50 als Kolonisation, 17 als Tracheobronchitis und 19 als invasive Aspergillose (257). In einer Studie der *Stanford University* hatten 215 von 637 untersuchten LTX- und HLTX-Patienten in einem Zeitraum von 22 Jahren eine positive Kultur oder Histologie für Schimmelpilze, 20% wurden als Kolonisation und 14% als invasive Schimmelpilzinfektion gewertet. Mit 72% waren *Aspergillus spp.* die häufigsten Schimmelpilze (258). Clark et al. geben eine Inzidenz von invasiven Aspergillose-Infektionen von 8,8-10,1% an (259). In der bereits oben erwähnten Studie von Letho et al., die aufgrund des Studiendesigns am ehesten mit unserem Studienkollektiv vergleichbar ist, wurden bei 3,6% (n = 17) der Bronchoskopien *Aspergillus spp.* isoliert, nur zwei davon wurden als invasive Aspergillose gewertet (0,2% aller Bronchoskopien) (255). Diese Daten sind mit denen des UKGM Gießens bezüglich der Häufigkeit einer *Aspergillus*kolonisation und -infektion übereinstimmend. Die höheren Inzidenzen der anderen Studien sind durch das unterschiedliche Studiendesign und die bereits bei den bakteriellen Infektionen genannten Punkten zu erklären.

4.3.3 Virale Infektionen

Die Beschreibung viraler Infektionen ist sehr heterogen und äußerst komplex. Aufgrund der Fokussierung dieser Arbeit auf die akute Abstoßung nach Lungentransplantation, soll daher im Folgenden nur auf diejenigen viralen Infektionen genauer eingegangen

werden, die als Risikofaktoren für die ACR von Bedeutung sind. CARV wurden bei dem Studienkollektiv bei 8,4 % (n = 37) aller Untersuchungen nachgewiesen, in 65 % (n = 24) der Fälle handelte es sich um eine asymptomatische Virusreplikation, in 35 % (n = 13) der Fälle um eine symptomatische Virusinfektion. Anders formuliert konnte bei 15,3 % (13/85) aller klinisch-indizierten Bronchoskopien ein viraler Infekt nachgewiesen werden. Häufigstes Virusisolat aller Untersuchungen waren Rhinoviren (46 %, n = 17). In der Literatur werden CARV-Inzidenzen zwischen 7,8 und 34 % angegeben, abhängig vom Studiendesign und den jeweiligen Einschlusskriterien (260). In einer prospektiven Kohortenstudie von Garbino et al. wurden 285 BAL-Proben von LTX-Patienten über einen Zeitraum von 27 Monaten untersucht. Die Bronchoskopien waren in allen Fällen klinisch indiziert. Insgesamt wurde bei 48 Untersuchungen (16,8 %) ein positiver Virusnachweis erbracht (261). Die Ergebnisse sind daher mit denen unseres Studienkollektivs vergleichbar. Gottlieb et al. berichten in ihrer prospektiven Studie an 388 LTX- und HLTX-Patienten aus Hannover über ähnliche Zahlen. Von den 388 Studienpatienten erhielten 132 eine klinisch-indizierte Bronchoskopie (die restlichen Messungen erfolgten mittels oropharyngealem Abstrich); in 20,5 % der Fälle (n = 27) erfolgte ein respiratorischer Virusnachweis. Häufigste Erreger waren mit 35,3 % Parainfluenzaviren (262). In einer kanadischen Studie von Kumar et al. wurden 582 BAL-Proben (419 Routinebronchoskopien, 163 klinisch-indizierte Bronchoskopien) von 93 LTX-Patienten auf das Vorkommen von CARV untersucht. Insgesamt wurden diese bei 13,9 % (n = 81) aller Untersuchungen nachgewiesen, in 74 % (n = 60) der Fälle handelte es sich um eine asymptomatische Virusreplikation, in 26 % (n = 21) der Fälle um eine symptomatische Virusinfektion. Im Umkehrschluss wurde bei 13 % (21/163) aller symptomatischen Patienten eine Virusinfektion mittels BAL detektiert (263). Am häufigsten wurden Rhinoviren (57 %, n = 46) nachgewiesen (263). Somit sind die Daten von Kumar et al. bei ähnlichem Studiendesign mit denen unseres Studienkollektivs vergleichbar. Bei allen genannten Studien erfolgte der Virusnachweis mittels PCR, was die grundlegende Übereinstimmung der Ergebnisse erklärt. Bei Nutzung anderer Verfahren (z.B. Immunfluoreszenz) wurden dagegen wesentlich niedrigere Detektionsraten erzielt (264). Eine sensitive Diagnostik ist u.a. deswegen von Bedeutung, da in mehreren Studien der Einfluss von CARV auf das Auftreten einer CLAD (265) und potentiell auch auf das Auftreten einer ACR (siehe unter 4.5.3) nachgewiesen wurde.

4.4 Akute zelluläre Abstoßung

Von den 450 durchgeführten Bronchoskopien bei den 89 Studienpatienten standen 435 transbronchiale Biopsien zur Beurteilung einer akuten zellulären Abstoßungsreaktion zur Verfügung. Eine akute Abstoßung A1 nach ISHLT 2006 wurde bei 39,5 % (172/435) und eine akute Abstoßung $A \geq 2$ bei 3,2 % (14/435) aller Untersuchungen diagnostiziert. Entsprechend lag bei 50,4 % (219/435) der Bronchoskopien keine A-Abstoßung vor; bei 6,9 % (30/435) konnte die Abstoßung der Blutgefäße nicht beurteilt werden. Eine akute Abstoßung B1 nach ISHLT 1996 wurde bei 34,7 % (151/435) und eine akute Abstoßung $B \geq 2$ bei 5,7 % (25/435) aller Untersuchungen diagnostiziert, eine ACR B1R nach ISHLT 2006 bei 37,9 % (165/435) und eine ACR B2R bei 1,8 % (8/435) aller Untersuchungen. Somit lag bei 59,1 % (257/435) der Bronchoskopien keine Abstoßung der Atemwege vor, bei 0,5 % (2/435) konnte eine B-Abstoßung nicht beurteilt werden. Eine „therapierelevante Abstoßung“ lag bei 21,8 % (95/435) aller Untersuchungen vor. Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, dass von den 95 Bronchoskopien, bei denen eine therapierelevante akute Abstoßung diagnostiziert wurde, lediglich 23,5 % (22/95) aller Untersuchungen aus klinischer Indikation erfolgten, während die restlichen Bronchoskopien im Rahmen von Routinebronchoskopien (*surveillance bronchoscopy*, SB) durchgeführt wurden. Im Umkehrschluss wurden 76,5 % aller therapiebedürftigen Abstoßungen bei Routinebronchoskopien diagnostiziert, d. h. ohne dass irgendwelche klinischen oder funktionellen Auffälligkeiten bei den Patienten vorlagen. Hierbei muss jedoch berücksichtigt werden, dass Patienten mit gleichzeitig bestehender Infektion nicht ausgeschlossen wurden. Tendenziell waren bei den klinisch-indizierten Bronchoskopien (*clinically indicated bronchoscopy*, CB) häufiger A3- und B3-Abstoßungen sowie eine B4-Abstoßung nachweisbar, bei den Routinebronchoskopien dagegen häufiger A2- und B2-Abstoßungen (CB: $A \geq 2$ 18,2 %, $B \geq 2$ 31,8 %; SB: $A \geq 2$ 13,7 %, $B \geq 2$ 24,7 %). Die leichteren Abstoßungen A1 bzw. B1 waren in beiden Gruppen etwa gleich häufig vertreten. An dieser Stelle muss erwähnt werden, dass Vergleiche mit der verfügbaren Literatur nur eingeschränkt möglich sind, da sich Studien zumeist nur mit der A-Abstoßung befassten, da die B-Abstoßung erst später als Risikofaktor der CLAD identifiziert wurde (266). Zudem wurde die Definition der lymphozytären Bronchiolitis 2006 überarbeitet und neu klassifiziert (148). Hinzu kommt außerdem, dass zwar ein genereller Konsens besteht, dass eine Abstoßung $A \geq 2$ therapiert wird, die Therapieentscheidung bei einer Abstoßung A1 und LB jedoch unterschiedlich getroffen wird, wodurch sich die uneinheitliche Wichtung verschiedener Studien erklärt (129, 267).

In einer einjährigen prospektiven Studie des *Alfred Hospitals* in Melbourne wurden 326 Bronchoskopien mit TBB (31,3 % CB und 68,7 % SB) bei 124 LTX-Patienten

durchgeführt. Untersucht wurden ausschließlich Grad A-Abstoßungen, als relevant wurde eine Abstoßung $A \geq 2$ bewertet. Diese lag in 15,7% der Fälle bei klinisch-indizierten Bronchoskopien und in 18,8% der Fälle bei Routinebronchoskopien vor (151). Die etwas höhere Rate an $A \geq 2$ -Abstoßungen bei den Surveillancebronchoskopien im Vergleich zu unserer Studie könnte daran liegen, dass 70% aller Untersuchungen von McWilliams et al. im ersten Posttransplantationsjahr und hier schwerpunktmäßig in den ersten drei Monaten nach Transplantation (nach 2, 4, 8, 12 Wochen) durchgeführt wurden, wo die Rate an Abstoßungen bekanntermaßen besonders hoch ist (16). Bei unserem Studienkollektiv hingegen wurden nur 40,1% der Untersuchungen im ersten Jahr durchgeführt. In einer Single-Center-Studie von Valentine et al. wurden 47 LTX-Patienten in zwei Gruppen aufgeteilt, 24 Patienten erhielten Routinebronchoskopien (6 Wochen, 3 und 6 Monate, 1 Jahr nach Tx), 23 Patienten wurden nach zentrumsüblicher Praxis (CB) überwacht. Die Patientengruppen unterschieden sich in Induktionstherapie und CMV-Status. Insgesamt wurden 240 Bronchoskopien mit TBB über einen Zeitraum von drei Jahren durchgeführt, hiervon 84 CBs und 156 SBs (102 der 156 SBs wurden nachträglich jedoch als klinisch-indiziert eingestuft, so dass letztlich nur 54 reine Routinebronchoskopien durchgeführt wurden). Es wurde keine therapiebedürftige ACR bei den 54 Routinebronchoskopien detektiert (154). Eine A1B1-Abstoßung, welche am UKGM Gießen i. d. R. therapiert wird, wurde hier als nicht therapie relevant eingestuft. In einem Beobachtungszeitraum von weiteren zwei Jahren nach Abschluss der Studie fanden die Autoren keinen signifikanten Unterschied im BOS-freien Überleben zwischen beiden Gruppen und postulierten daher, dass Routinebronchoskopien nach Risiko-Nutzen-Abwägung keinen sichtbaren Vorteil erbächten (154). Allerdings ist diese Studie aufgrund der geringen Untersuchungsanzahl in der SB-Gruppe sowie den unterschiedlichen Grundvoraussetzungen beider Gruppen in ihrer Aussagekraft limitiert. In einer weiteren Studie von Chakinala et al. lag die diagnostische Ausbeute von Routinebronchoskopien zwischen Tag eins und 400 nach LTX bei 31% ($A \geq 1$, $B > 1$), eine isolierte Abstoßung $B > 1$ trat in nur 1,7% der Fälle auf (268). Inwieweit die Durchführung von Routinebronchoskopien zur Detektion einer akuten Abstoßung sinnvoll ist, wird in der Literatur nach wie vor kontrovers diskutiert (151, 154, 268–270). Aufgrund der relativ hohen diagnostischen Ausbeute der SBs, abhängig von der Definition der ACR zwischen 15% und 40% (268), in unserer Studie sogar über 70%, und der Tatsache, dass eine akute Abstoßung das Risiko für CLAD erhöht (130, 152, 266), sehen Befürworter von Routinebronchoskopien die Durchführung dergleichen zur Initiierung einer frühzeitigen Therapie als gerechtfertigt. Zudem konnte in Studien nachgewiesen werden, dass auch minimale A-Abstoßungen (A1) (177) sowie isolierte B-Abstoßungen (152) mit dem Auftreten von CLAD assoziiert sind. Dies

unterstützt ebenfalls die Anwendung von festgelegten TBBs, insbesondere, da bis dato keine validen nicht-invasiven Surrogatparameter existieren, die eine TBB ersetzen könnten (267). Durch die Bronchoskopie können außerdem die Atemwege inspiziert und Infektionen frühzeitig entdeckt und behandelt werden. Kritiker von Routinebronchoskopien argumentieren, dass asymptomatische Patienten dem Risiko einer invasiven Untersuchung ausgesetzt werden, ohne dass die Detektion oder Behandlung einer ACR das Auftreten einer CLAD verhindert oder das Langzeitüberleben beeinflusst (154). Diesbezüglich liegen allerdings keine multizentrischen, randomisierten Studien vor (268), so dass die meisten Zentren weiterhin Routinebronchoskopien durchführen (154). Insbesondere aufgrund der erst seit kurzem bestehenden Aufgliederung der chronischen Transplantatdysfunktion in zwei Unterkategorien, BOS und RAS, kann zurzeit noch nicht abgeschätzt werden, inwieweit eine (präemptive) Therapie der akuten Abstoßung die Auftretenswahrscheinlichkeit von RAS beeinflusst. Beispielsweise war in einer Studie von Verleden et al. die Prävalenz von Grad B-Abstoßungen bei Patienten mit RAS im Vergleich zu denen mit BOS deutlich höher (271).

McWilliams et al. empfehlen die Durchführung von SBs mit TBB im ersten Jahr nach LTX, anschließende SBs zur Risikominimierung ausschließlich mit BAL ohne TBB (151). Anhand der Daten unserer Studie ist jedoch zu erkennen, dass der Anteil von therapielevanten Abstoßungen im Verhältnis zu allen durchgeführten Bronchoskopien gerade in späteren Transplantationsjahren besonders hoch ist, im sechsten und siebten Jahr nach Transplantation lag der Anteil beispielsweise bei 50%. Die Hälfte der therapielevanten Abstoßungen wurde durch Routinebronchoskopien detektiert (u. a. eine B3-Abstoßung), so dass die Entnahme von TBBs im Rahmen von SBs auch nach dem ersten Transplantationsjahr durchaus gerechtfertigt ist.

4.5 Infektionsbedingte Risikofaktoren für das Auftreten einer ACR

Infektions-assoziierte Risikofaktoren wurden im Zusammenhang mit der chronischen Transplantatabstoßung ausgiebig untersucht. Die Daten über eine Assoziation mit der akuten Transplantatabstoßung sind jedoch, ausgenommen von viralen Infektionen, begrenzt und teilweise widersprüchlich (267).

4.5.1 Bakterielle Infektionen

In unserer Studie war das Vorliegen einer bakteriellen Pneumonie signifikant mit einer akuten Transplantatabstoßung assoziiert und zwar sowohl mit einer therapielevanten ACR als auch mit der ACR Grad A und Grad B bzw. BR. Der statistische Nachweis einer Korrelation zwischen einer bakteriellen Tracheobronchitis und ACR gelang hingegen nicht. Die Literatur zu bakteriellen Infektionen und ACR ist dürftig. Basierend auf einer Studie an Maus-Modellen postulierten Yamamoto et al., dass eine Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* die erworbene Allografttoleranz durch G-CSF-abhängige Neutrophilie (und darüber T-Zellaktivierung) durchbrechen und eine akute Abstoßung stimulieren kann (272). Bisher existiert allerdings keine klinische Studie, die dies bestätigen konnte (267). In der Studie des UKGM Gießens war eine Kolonisation oder Infektion mit *Pseudomonas aeruginosa* nicht mit einem häufigeren Auftreten einer ACR assoziiert. Eine weitere Single-Center-Studie untersuchte Lungentransplantierte mit einer *Staphylococcus aureus*-Infektion. Es konnte nachgewiesen werden, dass Patienten, die innerhalb der ersten 90 Tage nach Transplantation eine *Staphylococcus aureus*-Infektion aufwiesen, signifikant häufiger eine akute Abstoßung erlitten (273). Beurteilt wurden in dieser Studie allerdings nur Grad A-Abstoßungen. In einem aktuellen Review von Koutsokera et al. wird eine bakterielle Infektion als „möglicher Risikofaktor“ für eine ACR eingestuft (267). Die Beurteilung von bakteriellen Infektionen und deren Zusammenhang mit einer akuten Abstoßung wird durch mehrere Faktoren erschwert. Weder existiert eine allgemeingültige Definition der bakteriellen Infektion (teilweise werden Kolonisation, Tracheobronchitis und Pneumonie synonym verwendet), noch wird der Begriff der akuten Abstoßung in unterschiedlichen Studien einheitlich verwendet; teilweise ist die genaue Definition der Infektion bzw. der ACR erst gar nicht nachvollziehbar.

In der Revision der 1996 verfassten *Working Formulation* der ISHLT wird betont, dass Ergebnisse der TBBs im klinischen Kontext bewertet werden müssen, da Abstoßungen und Infektionen häufig zusammen auftreten und histologisch verwechselt werden können. Eine Infektion sollte daher, insbesondere bei Fehlen von perivaskulären Infiltraten (Grad A-Abstoßung), ausgeschlossen werden (148, 212). Diese Vorgabe erschwert die Interpretation einer Infektion als Risikofaktor für eine ACR zusätzlich, da eine sichere klinische Differenzierung beider Entitäten nicht möglich ist (139). Ob eine Infektion daher das Auftreten einer ACR triggert, beide zufällig koinzidieren oder histologisch missinterpretiert wurden, ist letztlich schwierig zu differenzieren. Diesbezüglich sind weitere Studien unter Einbeziehung der neueren Entwicklungen auf dem Gebiet der ACR (insbesondere der lymphozytären Bronchiolitis) unter Berücksichtigung standardisierter Definitionen nötig.

4.5.2 Mykotische Infektionen

Die Kolonisation oder Infektion mit Pilzen hatte in unserer Studie keinen signifikanten Einfluss auf das Auftreten einer akuten Abstoßungsreaktion. In der Literatur findet sich nur eine einzige Studie zu Pilzinfektionen und ACR. Solé et al. untersuchten 251 LTX-Patienten über einen Zeitraum von 13 Jahren auf Prävalenz und klinische Manifestation von Aspergillus-Infektionen. Sie fanden u. a. heraus, dass etwa 1,8 Monate nach einer Isolation von Aspergillus aus respiratorischem Material eine ACR auftritt und konkludierten, dass ein Aspergillusnachweis einerseits zu einer akuten Abstoßung prädisponieren und andererseits als potentieller Frühmarker zur Detektion einer ACR fungieren könnte (257). Wie genau die ACR in dieser Studie definiert wurde, lässt sich jedoch nicht eruieren. Um den Einfluss von Pilzen, insbesondere Aspergillus, auf das Auftreten einer ACR genauer determinieren zu können, sind weitere Studien notwendig. Eine antimykotische Prophylaxe wird derzeit von etwa 65 % der Transplantationszentren durchgeführt; allerdings besteht weder über Präparat, noch über Applikationsart oder -dauer Konsens (274).

4.5.3 Virale Infektionen

In dieser Studie war das Vorliegen von respiratorischen Viren in der BAL signifikant mit dem gleichzeitigen Auftreten einer therapielevanten ACR assoziiert. Zudem erhöhte der Nachweis von CARV das Risiko, zu einem späteren Zeitpunkt eine therapierelevante ACR zu erleiden. Die Assoziation von CARV und lymphozytärer Bronchiolitis zum Untersuchungszeitpunkt war ebenfalls signifikant, die von CARV und der Grad A-Abstoßung nicht. In der Literatur ist die Datenlage diesbezüglich uneinheitlich. Einige Studien postulierten eine positive Assoziation zwischen ACR und CARV (263, 275, 276), andere wiederum nicht (277–280). Kumar et al. untersuchten in einer prospektiven Studie 93 LTX-Patienten über einen Zeitraum von zwei Jahren und einem Follow-up von ebenfalls zwei Jahren auf das Auftreten einer akuten Abstoßung ($A \geq 2$ in TBB oder FEV_1 -Abfall $\geq 20\%$ vom Ausgangswert) innerhalb von drei Monaten nach positivem Virusnachweis in der BAL. Die Virusdetektion erfolgte mittels PCR. 33,3% der CARV-positiven Patienten erreichten den primären Endpunkt im Vergleich zu 6,4% der CARV-negativen Patienten; der Unterschied war signifikant (263). In der Studie von Larcher et al. wurde ebenfalls ein statistisch signifikanter Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens einer ACR ($A > 1$) zwischen CARV-positiven und -negativen Patienten detektiert. Allerdings wurden nur 26 Patienten in die Studie eingeschlossen und ausschließlich auf hMPV untersucht (275). Die Studie von Vilchez et al. suggerierte

ebenfalls eine Assoziation zwischen dem Auftreten von Influenza- bzw. Parainfluenzavirus und ACR ($A \geq 1$ oder $B \geq 1$) (276). Eine der Studien, die CARV-Infektionen nicht als Risiko für eine erhöhte ACR-Inzidenz identifizieren konnten, ist die Studie von Sayeh et al.. Verglichen wurden CARV-positive und CARV-negative LTX- und HLTX-Patienten auf das Auftreten einer akuten Abstoßung 1-2 Monate nach positiver bzw. negativer Virus-BAL. Es wurde kein Unterschied in beiden Gruppen festgestellt (weder für $A > 0$ noch für $B > 0$ oder $A \geq 2$) (277). Eine erhebliche Einschränkung dieser Studie ist jedoch, dass alle CARV-positiven Patienten mit einer Augmentation der Kortikosteroiddosis behandelt wurden (277), so dass dies möglicherweise das Auftreten einer nachfolgenden ACR verhindert hat. Soccia et al. untersuchten in einer prospektiven Kohortenstudie 343 Bronchoskopien (BAL auf Virusgenom und TBB auf ACR ($A \geq 2$)) bei 77 LTX-Patienten und fanden weder eine Assoziation von CARV-Infektionen und simultaner ACR noch ein erhöhtes Risiko für ein späteres Auftreten einer ACR (278). Der Nachbeobachtungszeitraum war mit 30 respektive 90 Tagen allerdings relativ kurz. In einem systematischen Review von 34 Studien wurden CARV-Infektionen bei Lungentransplantierten untersucht. In der Metaanalyse der Daten konnte keine Assoziation zwischen einer viralen Infektion und einer akuten Abstoßung nachgewiesen werden (281). Allerdings wurden nur vier der 34 Studien in die Metaanalyse einbezogen; zudem wiesen diese z.T. erhebliche Unterschiede hinsichtlich Studiendesign, Definition der ACR, Zeitpunkt der ACR sowie der viralen Diagnostik auf, so dass eine Interpretation des Ergebnisses schwierig ist.

In der vorliegenden Studie konnte ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Nachweis eines respiratorischen Virus in der BAL und dem Auftreten einer simultanen und späteren ACR nachgewiesen werden. Vorteile dieser Studie sind die hohe Anzahl an durchgeführten Bronchoskopien mit konsekutiver BAL und TBB, Erfassung sowohl symptomatischer als auch asymptomatischer Patienten (Infektion und reine Replikation) und die hohe Ausbeute an Virus-positiven Patienten durch die Verwendung von molekulargenetischer Diagnostik (und damit Erfassung eines sehr breiten Virenspektrums). Da die Daten dieser Studie eine Assoziation von CARV und ACR bekräftigen, könnte in einem nächsten Schritt der Frage nachgegangen werden, ob eine spezifische Intervention bei CARV-positiven Patienten zu einer Verringerung der ACR-Rate führt. Dies wiederum könnte wesentliche Auswirkungen auf das Langzeitoutcome haben, da die ACR der Hauptrisikofaktor für die Entwicklung eines BOS und dieses wiederum die Haupttodesursache bei LTX-Patienten ist. Dies hebt die Notwendigkeit von weiteren, multizentrischen, kontrollierten, prospektiven Studien über die Interaktion von CARV und ACR hervor.

4.6 Zell- und Zytokinmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR

4.6.1 Warum werden Alternativen zur Abstoßungsdiagnostik benötigt?

Die im Rahmen der Bronchoskopie gewonnene bronchoalveoläre Lavage dient bei Lungentransplantierten vor allem der mikrobiologischen Diagnostik, die transbronchiale Biopsie ist nach wie vor Goldstandard zur Abstoßungsdiagnostik (148). Wie in der Einleitung beschrieben, können klinische Beurteilung, Funktionstests oder Bildgebung zwar den Verdacht auf das Vorliegen einer ACR nahelegen, erlauben allerdings keine verlässliche Diagnose. Insbesondere ist die Unterscheidung von der wichtigsten Differentialdiagnose, der Infektion, anhand von Symptomen nicht möglich (139). Trotz des hohen Stellenwertes der TBB im Rahmen der Abstoßungsdiagnostik unterliegt auch diese gewissen Limitationen. Ein wichtiger Faktor ist die Invasivität der Maßnahme, die mit erheblichen Risiken für den Patienten einhergehen kann. Zu nennen sind hier insbesondere Blutungen und die Gefahr eines Pneumothorax, die je nach Literatur eine Komplikationsrate von 3,9-44,4% respektive 0-1,5% aufweisen (151). Für einseitig Transplantierte können diese Komplikationen zweifellos schwerwiegender ausfallen. Hieraus wird auch verständlich, dass transbronchiale Biopsien bei kritisch Kranken oder Patienten mit Blutungsneigung (u.a. Einnahme von gerinnungshemmenden Medikamenten) häufig trotz klinischer Indikation nicht durchgeführt werden. Hinzu kommt die Tatsache, dass die Ausbeute von TBBs bei kritisch Kranken eher mäßig ist (282). Eine weitere Einschränkung transbronchialer Biopsien ist die Rate an inadäquaten Proben, die nicht zur Beurteilung einer ACR genutzt werden können („AX“ bzw. „BX“). In der Literatur liegt diese Rate für die A-Gradierung bei 1,6-5% (151), für die B-Gradierung bei etwa 4-5% (152, 154). In unserer Studie lag die Rate an nicht verwertbaren TBBs bei 6,9% für die ACR Grad A und 0,5% für die ACR Grad B. Gründe für eine nicht beurteilbare Probe sind z.B. Fehlen von adäquatem Gewebe (v.a. der kleinen Atemwege), Artefakte, technische Schwierigkeiten (z. B. tangenciales Anschneiden) und das Vorhandensein einer Infektion (148). Die niedrige Rate an nicht-verwertbaren Grad B-Abstoßungen in unserer Studie könnte durch einen unzureichenden Ausschluss einer gleichzeitig vorliegenden Infektion, z.B. aufgrund fehlender klinischer Angaben, zustande gekommen sein. Erhebliche Diskrepanzen bei der Interpretation von histologischen Ergebnissen unter Pathologen ist ein weiterer Punkt, der die Reliabilität transbronchialer Biopsien einschränkt. Während in diversen Studien die Interrater- bzw. Intrarater-Reliabilität bei der A-Gradierung noch mit moderat bis beträchtlich (Kappa 0,47-0,73 bzw. 0,65) angegeben wurde (156, 157, 159, 283), lag sie für die B-Gradierung

nur bei ausreichend bis moderat (Kappa 0,26-0,47 bzw. 0,33) (156, 159, 283). Der Kappa-Koeffizient nach Cohen (κ) ist ein statistisches Maß für die Interrater- bzw. Intrarater-Reliabilität bei der Beurteilung von Stichproben. Bei $\kappa = 1$ stimmen alle Beurteilungen überein, bei $\kappa = 0$ entspricht das Ausmaß der Übereinstimmung dem mathematischen Zufall. Die Einteilung erfolgt in „etwas“ < „ausreichend“ < „moderat“ < „beträchtlich“ < „(fast) vollkommen“. In einer großen multizentrischen, internationalen Studie (LARGO) wurden 1566 TBBs von 845 LTX-Patienten hinsichtlich der Interobserver-Variabilität untersucht. Die TBBs wurden zunächst von den jeweiligen Zentrumspathologen ausgewertet und anschließend durch eine Expertenkommission, bestehend aus drei Pathologen, anhand der ISHLT-Kriterien neu eingestuft (Blindstudie). Der Kappa-Wert lag für die A-Gradierung bei 0,183 und für die B-Gradierung bei 0,035. Dies lag hauptsächlich daran, dass die Expertenkommission 35,2% der Proben als AX bzw. 54,3% der Proben als BX werteten, während die Zentrumspathologen die Bewertung „nicht gradierbar“ gar nicht vergaben. Ungeachtet dessen, wurde die Diagnose A1-Abstoßung in nur 21% der Fälle durch die Expertenkommission bestätigt; 19% wurden zu $A \geq 2$ hochgestuft, 36% zu A0 heruntergestuft. Die Diagnose A2-Abstoßung wurde in 53% der Fälle bestätigt; 18% wurden zu A1 und 16% zu A0 heruntergestuft. Bezugnehmend auf die B-Gradierung war die Konstellation ähnlich (158). Die Variabilität führte zum einen zu einer potentiell unnötigen Augmentation der immunsuppressiven Therapie, zum anderen wurde in anderen Fällen auf eine nötige Therapieanpassung verzichtet (158). Trotz unterschiedlichem Studiendesign kamen Gordon et al. zu ähnlichen Ergebnissen (284).

Die aufgeführten Limitationen bei der Bewertung von transbronchialen Biopsien hinsichtlich einer ACR machen die Notwendigkeit deutlich, ergänzende Techniken zur Optimierung der Aussagekraft der TBBs zu entwickeln oder, aufgrund der Invasivität derselben, diese gar zu ersetzen.

4.6.2 Zellmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR

Die Gesamtzellzahl in der BAL war in dieser Studie bei Patienten mit therapierelevanter ACR signifikant höher als bei Patienten ohne therapierelevante ACR; zudem war ein proportionaler Anstieg mit zunehmendem Schweregrad der akuten Abstoßung zu verzeichnen (A-, B- bzw. BR-Gradierung, statistische Signifikanz für B- bzw. BR-Gradierung). Ähnlich verhielt es sich mit der Anzahl an Neutrophilen. Diese waren während einer therapierelevanten ACR signifikant erhöht und stiegen mit steigendem Schweregrad der Abstoßung weiter an (A-, B- bzw. BR-Gradierung, statistische

Signifikanz für B- und BR-Gradierung sowie $B \geq 2$). Die Zahl an Eosinophilen stieg ebenfalls mit steigendem Grad der Abstoßung (B-Gradierung, statistische Signifikanz für B-Gradierung und $B \geq 2$). Die Anzahl von Makrophagen verhielt sich umgekehrt. Sie waren bei einer therapielevanten ACR signifikant niedriger als ohne therapierelevante ACR und fielen mit zunehmendem Schweregrad der ACR weiter ab (A-, B- bzw. BR-Gradierung, statistische Signifikanz für B- und BR-Gradierung sowie $B \geq 2$). Die totale Anzahl an Lymphozyten unterschied sich bei Patienten mit oder ohne therapierelevante ACR nicht signifikant voneinander, allerdings zeigte sich bei der Betrachtung der A-Gradierung eine steigende Tendenz mit zunehmendem Schweregrad der Abstoßung, welche statistisch signifikant war.

Diverse Studien befassten sich mit der Zellzusammensetzung der BAL während einer akuten Abstoßung. Eine Vergleichbarkeit oder Reproduzierbarkeit ist, u. a. aufgrund der Heterogenität der Studiendesigns, der BAL-Durchführung sowie der Definition der ACR, jedoch schwierig.

Die Gesamtzellzahl in der BAL ist bei Patienten nach Lungentransplantation im Vergleich zu gesunden Nichtrauchern konstant erhöht mit den höchsten Werten in den ersten Wochen nach Transplantation. Als Ursache wird eine Interaktion zwischen Donor- und Empfängerzellen postuliert (160). In Studien war die Gesamtzellzahl bei Patienten mit akuter Abstoßung höher als bei Patienten ohne akute Abstoßung (141, 142, 160, 162, 228). Die Zellzahl wurde mit 124 bis über 700/ μl angegeben (zum Vergleich: stabile LTX-Patienten 140-442/ μl (161)) (160–162, 228, 285). Die erhebliche Varianz der Ergebnisse kann unterschiedliche Gründe haben. Neben unterschiedlichen Studiendesigns, Diagnosekriterien, immunsuppressiven Regimes und der fehlenden Standardisierung von Kollektion und Bearbeitung der BAL, spielt hier vor allem die unterschiedliche (oder zum Teil gar nicht erwähnte) Definition der ACR eine entscheidende Rolle. In der Studie des UKGM Gießens lag die Gesamtzellzahl einer therapielevanten ACR im Median bei 150/ μl , die einer nicht-therapielevanten ACR bei 116/ μl . Die Gesamtzellzahl ist daher zentrumsspezifisch, abhängig von o.g. Faktoren und kann bis dato nicht als Kriterium für das Vorliegen einer ACR angewandt werden, zumal hohe Zellzahlen sowohl bei CLAD als auch bei Infektionen beschrieben wurden (160).

Der prozentuale Anteil an Neutrophilen in der BAL war in den meisten klinischen Studien während einer akuten Abstoßungsreaktion erhöht und lag zwischen 15-30% (160, 161). Bei stabilen Lungentransplantierten werden in den ersten vier Wochen nach

Transplantation Werte bis zu 25-50 % angegeben (160), anschließend reduzieren sie sich auf Werte zwischen 4-12 % (161). Vanaudenaerde et al. fanden einen signifikanten Anstieg der Neutrophilen an Tag 28 nach LTX in der ACR-Gruppe verglichen mit der Kontrollgruppe (16 % versus 3,5 %) (162). Einschränkend muss hier erwähnt werden, dass die Kontrollgruppe aus 17 Patienten, die ACR-Gruppe aus nur neun Patienten bestand sowie der frühe Untersuchungszeitpunkt nach Transplantation. Die ACR wurde als $A \geq 1$ definiert, zwei der Patienten in der ACR-Gruppe hatten zudem eine begleitende Grad B-Abstoßung (162). Eine erhöhte Anzahl von BAL-Neutrophilen bei Patienten mit akuter Abstoßung (Grad A) im Vergleich zu stabilen LTX-Patienten wurde auch in anderen Studien dokumentiert (142, 164, 228); darüber hinaus konnte eine Korrelation ihres Anstiegs mit zunehmendem Schweregrad der Abstoßung nachgewiesen werden (285). Die Studie von Vos et al. ist die bisher einzige Studie, die einen direkten Zusammenhang zwischen BAL-Zellprofil und Schweregrad der ACR Grad A und Grad B untersucht hat. Ein zunehmender Schweregrad der Grad A- und B-Abstoßung war mit einer Zunahme an Neutrophilen in der BAL assoziiert. Dieser Anstieg war für die Grad B-Abstoßung sogar noch stärker ausgeprägt (B0 5 %, B1 20 %, B2 45,1 %, B3 73,2 %) und war mit und ohne Anpassung an potentielle *Confounder* gleichermaßen (signifikant) nachweisbar (285). Die Studie deckt sich mit den Daten unserer Studie; hier konnte ebenso eine Zunahme der Neutrophilen mit steigendem Abstoßungsgrad (A und B bzw. BR) nachgewiesen werden, wobei der Effekt ebenfalls bei der lymphozytären Bronchiolitis stärker ausgeprägt war (B0 5 %, B1 7 %, B2 21,5 %, B3 72 %). Tikkanen et al. fanden überdies in ihrer prospektiven Studie an 20 LTX- und HLTX-Patienten heraus, dass insbesondere später auftretende (> 180 Tage nach Transplantation) Abstoßungen mit einem erhöhten prozentualen Anteil an Neutrophilen in der BAL einhergehen, während zuvor eher Lymphozyten mit einer ACR assoziiert waren (142). Den genannten Studien stehen andere gegenüber, die keinen Zusammenhang zwischen einer erhöhten Zahl an Neutrophilen und einer ACR detektieren konnten (165, 229). Slebos et al. verglichen in ihrer Studie die Zellzusammensetzung der BAL einer ACR- und Kontroll-Gruppe (d 94 nach Tx) bzw. einer BOS- und Kontroll-Gruppe (d 366 nach Tx) und fanden keinen Unterschied in der Anzahl an Neutrophilen zwischen ACR und Kontrolle, wohl aber zwischen BOS und Kontrolle (229). Es kann allerdings hier nicht ausgeschlossen werden, dass der fehlende Anstieg der Neutrophilen in der ACR-Gruppe ursächlich einem zeitabhängigen Faktor zugrunde liegt, da, wie weiter oben erwähnt, Tikkanen et al. eine Neutrophilie erst ab einem späteren Zeitpunkt nach Transplantation nachweisen konnten. Bezugnehmend auf die chronische Transplantatdysfunktion konnte auch in anderen Studien eine erhöhte Anzahl von Neutrophilen bei Vorliegen derselben nachgewiesen werden (160, 187, 228), gleichermaßen wie bei Vorliegen einer Infektion

(160, 190, 228). Zusammenfassend kann dennoch postuliert werden, dass bei einer (zentrumsspezifischen) Erhöhung der Neutrophilen in der BAL, insbesondere in späteren Phasen nach LTX, der Verdacht auf das Vorliegen einer möglichen akuten Abstoßungsreaktion geäußert werden sollte, insofern keine Hinweise für eine CLAD oder Infektion vorliegen (eine reine Kolonisation der Atemwege durch Bakterien, Pilze oder Viren hatte in einer Studie von Vanaudenaerde et al. keinen Einfluss auf die Anzahl von Neutrophilen in der BAL (228)).

Unter der Anwendung von Makroliden wie Azithromycin wurde in Studien eine Reduktion der Anzahl an Neutrophilen in der BAL aufgrund des antiinflammatorischen Effekts nachgewiesen (184, 286). Dies könnte ein Grund dafür sein, dass in unserer Studie die Signifikanz für erhöhte Neutrophile bei der ACR Grad A nicht erreicht wurde, da am UKGM Gießen alle Patienten direkt nach Transplantation Azithromycin erhalten. Dies war in den meisten o.g. Studien nicht der Fall. In der Untersuchung von Vos et al. erhielten 15,6% der Patienten zum Zeitpunkt der Probenentnahme Azithromycin. Auch hier war der Anstieg der Neutrophilen in der BAL bei der ACR Grad A weniger ausgeprägt als bei der ACR Grad B, wenngleich in beiden Fällen signifikant (285).

Besonders interessant ist die Tatsache, dass in unserer Studie ein signifikanter Anstieg von Neutrophilen mit zunehmendem Schweregrad der lymphozytären Bronchiolitis detektiert wurde. Dies wurde außer in der Studie von Vos et al. in keiner anderen Studie nachgewiesen oder untersucht. Die LB wurde als unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten einer CLAD identifiziert (siehe unter 1.1.7.6 und 4.4) (152, 182, 200). Das Risiko steigt dabei mit dem Abstoßungsgrad (152, 182). Der Nachweis einer BAL-Neutrophilie in beiden Fällen (LB und CLAD) könnte auf einen unmittelbaren Zusammenhang beider Entitäten hinweisen oder gar suggerieren, dass die lymphozytäre Bronchiolitis eine Art Vorstufe der CLAD darstellt. Unterstützt wird diese Hypothese durch eine weitere Studie von Vos et al., in der belegt wurde, dass die Behandlung einer LB mit Azithromycin zu einem signifikanten Abfall der Neutrophilen in der BAL und zu einer Verbesserung der FEV₁ führt (286). Der gleiche Effekt wurde zuvor bei der Behandlung der CLAD mit Azithromycin nachgewiesen, bei welcher dies bereits ein etabliertes Therapieverfahren darstellt (183, 184, 219). Vos et al. postulierten, dass die modulierende Wirkung von Azithromycin auf IL-17⁺-T-Zellen zu einer Reduktion der BAL-Neutrophilie und damit zu einer Abnahme der Atemwegsinfektion führt. IL-17⁺-T-Zellen induzieren über die Induktion von IL-8 eine Neutrophilen-Chemotaxis (286). Dieser Hintergrund und die Ergebnisse unserer Studie legen nahe, bei Makrolid-naiven Patienten mit BAL-Neutrophilie und histologischem Nachweis einer lymphozytären Bronchiolitis einen Therapieversuch mit Azithromycin zu initiieren, um das Auftreten einer CLAD zu verzögern.

Der prozentuale Anteil an Makrophagen in der BAL war in den meisten klinischen Studien während einer akuten Abstoßungsreaktion erniedrigt und lag zwischen 30-70 % (160, 161). Bei stabilen Lungentransplantierten werden Werte zwischen 71-94 % angegeben (161). Greenland et al. fanden heraus, dass die Anzahl an Makrophagen in der BAL während einer ACR signifikant niedriger war als bei stabilen Lungentransplantierten; Makrophagen wurden als einer von vier Prädiktoren für das Auftreten einer ACR identifiziert (siehe weiter unten) (164). Diese Daten wurden von anderen Studien bestätigt (142, 162, 165, 229), sind aber weder spezifisch noch konsistent (160, 228). Da sich die Gesamtzahl an Makrophagen während einer ACR in einer Studie von Vanaudenaerde et al. nicht veränderte, ist der prozentuale Abfall der Makrophagen durch die Zunahme der Zahl an Neutrophilen während einer akuten Abstoßung bedingt (162). In der bereits oben erwähnten Studie von Vos et al. korrelierte der Anteil an Makrophagen invers mit dem Schweregrad der Abstoßung; dies war sowohl für die A- als auch für die B-Gradierung (A0 86,6 %, A1 82 %, A2 60 %, A3 32,3 % und B0 86,2 %, B1 72 %, B2 40,7 %, B3 21,8 %) signifikant (285) und deckt sich mit den Daten unserer Studie (A0 87,0 %, A1 84,0 %, A2 66,0 %, A3 33,0 % und B0 88,0 %, B1 85,0 %, B2 68,5 %, B3 25,0 %, B4 19,0 %).

Der prozentuale Anteil an Eosinophilen in der BAL war in den meisten klinischen Studien während einer akuten Abstoßungsreaktion erhöht und lag über 0 % (161). Bei stabilen Lungentransplantierten finden sich zumeist gar keine Eosinophile (161). Aufgrund ihres geringen Anteils an der Gesamtzellzahl in der BAL, wurden in einigen Studien auch keine erhöhten Zahlen an Eosinophilen während einer akuten Abstoßung nachgewiesen (162, 165, 228, 229). Allerdings war in allen Studien die Patientenanzahl in der ACR-Gruppe so gering (z.B. sieben oder neun Patienten), dass bei dem insgesamt niedrigen Eosinophilenanteil auch kein statistisch signifikantes Ergebnis zu erwarten gewesen wäre. Dennoch wurde in vielen (größeren) Studien, so auch in unserer, eine Assoziation von Eosinophilen und ACR belegt (142, 164, 285, 287). Tikkanen et al. konnten zeigen, dass Eosinophile, neben Lymphozyten, insbesondere in frühen Phasen nach Transplantation bei einer akuten Transplantatabstoßung eine Rolle spielen, während in späteren Phasen, wie bereits oben erwähnt, vor allem Neutrophile überwiegen (142). Greenland et al. definierten ein Vorhandensein von > 0 % Eosinophilen in der BAL als eines der Hochrisikofaktoren für das Auftreten einer ACR Grad A (siehe weiter unten), obwohl in weniger als 10 % der Proben überhaupt Eosinophile detektiert wurden (164). Eine Beziehung zwischen prozentualem Anteil von Eosinophilen in der BAL und dem Schweregrad einer ACR Grad A konnte durch Vos et al. dokumentiert werden (285). In unserer Studie korrelierte eine steigende Anzahl Eosinophiler mit zunehmendem

Schweregrad einer ACR Grad B (allerdings war in der Post-hoc-Testung mit der Kontrollgruppe (B0) nur die Abstoßung B2 statistisch signifikant (Dunn's-Methode, Daten im Ergebnisteil nicht gezeigt)). Beide BAL-Ergebnisse stehen im Konsens mit der histologischen Klassifikation der ACR Grad A und B der ISHLT. In beiden Fällen wird eine zunehmende Infiltration des Lungenparenchyms durch Eosinophile mit steigendem Abstoßungsschweregrad beschrieben (148). Bereits Anfang der neunziger Jahre wurden an der *University of Pittsburgh* 145 TBBs und BALs auf das Vorhandensein von Eosinophilen bei Vorliegen einer ACR untersucht. Es konnte demonstriert werden, dass deren Anzahl im Gewebe mit zunehmendem Abstoßungsgrad anstieg, bei einer schweren Abstoßung waren in 100 % der Fälle Eosinophile in der TBB nachweisbar. In neun von 112 ACR-Fällen lag der prozentuale Eosinophilenanteil im Gewebe über 50 %, in fünf der neun Fälle lag eine Erhöhung der BAL-Eosinophilen vor. Vier davon waren letztlich durch eine (begleitende) Infektion bedingt, in nur einem Fall war die ACR einzige Diagnose (287). Diejenigen Patienten, die einen hohen Eosinophilenanteil in der TBB aufwiesen und eine ACR als einzige Diagnose hatten (5/9), waren erst kurz transplantiert, sprachen gut auf eine Steroidstoßtherapie an und hatten allenfalls eine milde BAL-Eosinophilie (0-4 %); die restlichen Patienten (4/9) waren länger transplantiert und wiesen eine ausgeprägte BAL-Eosinophilie (15-38 %) auf (287). Die Daten decken sich mit den oben erwähnten von Tikkanen et al., in dessen Studie Eosinophile ebenfalls in der frühen Phase einer Transplantatabstoßung nachgewiesen werden konnten. Dennoch wird deutlich, dass eine erhöhte Anzahl von Eosinophilen in der BAL auch durch eine andere Ursache, nämlich vor allem Infektionen, bedingt sein kann (287, 288), was eine Bewertung derselben im Kontext einer ACR einschränkt.

In unserer Studie wurde ein Zusammenhang zwischen Eosinophilen in der BAL und dem Vorliegen einer lymphozytären Bronchiolitis nachgewiesen und überdies eine Korrelation zwischen steigenden Eosinophilenzahlen und zunehmendem Schweregrad der LB dokumentiert. Pathogenetisch wird eine T-Zell- und Makrophagen-induzierte, Interleukin-vermittelte Aktivierung von Eosinophilen postuliert, die über die Freisetzung von zytotoxischen Proteinen wie das eosinophile kationische Protein (*eosinophil cationic protein*, ECP) zu einer Beschädigung des Transplantates führen (161). Verleden et al. erbrachten den Nachweis, dass Patienten mit einer BAL-Eosinophilie $\geq 2\%$ im Vergleich zur Kontrollgruppe eine höhere CLAD-Inzidenz aufwiesen und davon zu einem größeren Teil ein RAS entwickelten (47 % versus 8 %). Zudem hatten sie ein schlechteres Gesamtüberleben (289). Es scheint daher einen engen Zusammenhang zwischen LB, Eosinophilen in der BAL und der Entwicklung einer CLAD, speziell eines RAS, zu geben. Da der zugrundeliegende Mechanismus der RAS-Entstehung bisher nicht bekannt ist, könnte dies eine Grundlage für weitere Forschung oder Entwicklung von

Therapiemöglichkeiten sein. Zudem wird hierdurch die Bedeutung der lymphozytären Bronchiolitis, die erst kürzlich als Risikofaktor der CLAD identifiziert wurde und zuvor wenig Beachtung erfuhr, evident. Das Vorhandensein einer LB, insbesondere im Zusammenhang mit einer BAL-Eosinophilie, sollte daher zukünftig zu engmaschigen klinischen Kontrollen und einer entschiedenen Therapie, ggf. sogar in früheren Stadien (Grad B1 bzw. B1R), führen.

Der prozentuale Anteil an Lymphozyten in der BAL war in den meisten klinischen Studien während einer akuten Abstoßungsreaktion erhöht und lag zwischen 10-60% (161). Bei stabilen Lungentransplantierten werden Werte zwischen 5-19% angegeben (161). Diverse Studien berichten von erhöhten Lymphozytenzahlen während einer akuten Abstoßungsreaktion Grad A abhängig vom Zeitpunkt der Untersuchung nach Transplantation (142, 162, 164, 229, 285). Tikkanen et al. fanden ein signifikanten Anstieg der Lymphozyten nur innerhalb der ersten 180 Tage nach Transplantation, danach überwogen Neutrophile (142). Dies deckt sich mit Beobachtungen anderer Studien, deren Untersuchungszeitpunkte, soweit eruierbar, alle innerhalb des ersten halben Jahres nach Transplantation lagen. Vos et al. konnten signifikant steigende Lymphozytenzahlen mit zunehmendem Schweregrad der Grad A-Abstoßung, nicht aber der Grad B-Abstoßung, dokumentieren (285). Gleiche Ergebnisse liefern die Daten unserer Studie. Anzumerken ist jedoch, dass die Lymphozytenzahlen in beiden Studien deutlich unterhalb des o.g. Intervalls für Werte einer ACR lagen, sich sogar innerhalb des Bereiches bewegten, der für stabile Lungentransplantierte als Referenz angegeben wird. Beispielsweise lag der prozentuale Anteil an Lymphozyten in der Arbeit von Vos et al. bei einer A2-Abstoßung bei 6%, in unserer Studie bei 4%. Bei der Interpretation von Lymphozytenzahlen sind daher zentrumsspezifische Besonderheiten zu beachten.

Erhöhte Lymphozytenzahlen in der BAL sind nicht spezifisch für eine ACR, sondern wurden auch bei Infektionen oder CLAD nachgewiesen (160, 228). In der Studie von Tikkanen et al. hatten Lymphozyten von $\geq 15\%$ eine Spezifität von 77% und eine Sensitivität von 64% innerhalb des ersten Monats nach Transplantation eine ACR zu diagnostizieren, in den Monaten 1-6 nach Transplantation lag die Spezifität, bei gleichbleibender Sensitivität, bei 86% (142). Als Kontrollgruppe dienten hier allerdings nur stabile LTX-Patienten und Patienten mit CMV-Infektion (keine CLAD oder andere Infektionen).

In der weiteren Lymphozytendifferenzierung ergaben sich in unserer Studie keine signifikanten Ergebnisse. Ursächlich könnte dieser Tatsache die niedrige Fallzahl in den jeweiligen Gruppen zugrunde liegen. Wie bereits im Ergebnisteil erwähnt, war beispielsweise eine Analyse der A-Gradierung nicht möglich. Bei Einteilung in A0/A1 versus $A \geq 2$ befanden sich in der $A \geq 2$ -Gruppe lediglich drei Patienten, so dass hier eine Interpretation der Ergebnisse nur sehr eingeschränkt möglich war.

Bezüglich der Verteilung von B-Lymphozyten und akuter Abstoßung existieren wenige Daten (161). Greenland et al. beschrieben in ihrer Studie eine Assoziation zwischen einem erhöhten Anteil von B-Lymphozyten in der BAL und dem Vorliegen einer ACR Grad A verglichen mit dem Vorliegen einer Infektion und stabilen LTX-Patienten (164). Ähnliche Daten liegen aus einer Untersuchung von Gregson et al. für die Grad A- und B-Abstoßung im Vergleich zu gesunden LTX-Patienten vor, allerdings wurden hier insgesamt nur 19 Patienten in die Studie eingeschlossen (166). T-Lymphozyten waren in der Studie von Greenland et al. sowohl bei Vorliegen einer Infektion als auch einer ACR Grad A erhöht (164), in der Studie von Gregson et al. nicht (166). T-Lymphozyten wurden in den meisten Studien vor allem hinsichtlich ihrer Unterklassen weiter untersucht. In einigen (160, 166), aber nicht allen (142, 164, 229) Studien fand sich eine Erhöhung der CD8⁺-T-Zellen und damit eine erniedrigte CD4/CD8-Ratio bei Vorliegen einer akuten Abstoßung. Dies wurde in unserer Studie nicht nachgewiesen. Tiroke et al. berichteten überdies, dass eine erniedrigte CD4/CD8-Ratio auch im Zusammenhang mit einer Infektion oder chronischen Abstoßung vorkommen kann (160). Zusammenfassend scheint die CD4/CD8-Ratio also kein verlässlicher Marker zur Vorhersage einer ACR zu sein. In wenigen Studien konnte ein Zusammenhang zwischen erhöhten CD25⁺-T-Zellen bzw. erniedrigten NK-Zellen und einer ACR detektiert werden (142, 164, 166).

In einer großen retrospektiven Studie an der *University of California* wurden über einen Zeitraum von 14 Jahren 1993 BALs von 212 LTX- und HLTX-Patienten auf die Zellzusammensetzung während einer akuten Abstoßung im Vergleich zu keiner Abstoßung und Infektion untersucht. Greenland et al. entwickelten aus den Ergebnissen ein Scoringssystem, welches mit hoher Wahrscheinlichkeit eine ACR $A \geq 1$ bzw. $A \geq 2$ vorhersagen kann (Monozyten $< 75\%$, CD25⁺-Zellen $> 8\%$, NK-Zellen $< 5\%$, Eosinophile $> 0\%$) (164). Das Scoringssystem beruht auf der Tatsache, dass sich in dieser Studie insbesondere die Anzahl an CD25⁺-Zellen und NK-Zellen von ACR und keiner ACR bzw. Infektion signifikant voneinander unterschieden (164). Dies war in unserer Studie nicht der Fall. Ein Grund hierfür könnten sein, dass die Anzahl an BALs mit Nachweis von CD25⁺-Zellen bzw. NK-Zellen insgesamt sehr gering war. Zum

anderen handelt es sich bei der Studie von Greenland et al. um eine Single-Center-Studie, zentrumsspezifische Besonderheiten könnten einen Einfluss auf die Ergebnisse gehabt haben. Zudem erfolgte keine Unterscheidung zwischen Kolonisation und Infektion, vielmehr wurde jeder positive mikrobiologische Nachweis als Infektion gewertet. Eine Kolonisation der Atemwege hatte in einer Studie von Vanaudenaerde et al. allerdings keinen Einfluss auf die Anzahl der Neutrophilen (und damit konsekutiv auf die Anzahl der Makrophagen) in der BAL (228).

Bezüglich der zellulären Zusammensetzung der bronchoalveolären Lavage lässt sich abschließend festhalten, dass eine erhöhte Anzahl von Eosinophilen, Lymphozyten und Neutrophilen und konsekutiv eine erniedrigte Anzahl von Makrophagen bei der akuten Abstoßungsreaktion im Vergleich zu stabilen Lungentransplantierten nachzuweisen ist. Hierbei scheinen Eosinophile und Lymphozyten eher in der frühen Phase nach Transplantation, Neutrophile eher in der späten Phase nach Transplantation (> sechs Monate) eine Rolle zu spielen. Eine zeitabhängige Untersuchung der BAL-Zusammensetzung wurde in unserer Studie nicht durchgeführt. Dafür konnte in unserer Studie bei allen o.g. Zellen ein signifikanter Zusammenhang zwischen deren Anzahl in der BAL und dem Schweregrad einer ACR nachgewiesen werden. Ob Cut-Off-Werte als Entscheidungshilfe zur Detektion einer ACR, wie von Greenland et al. vorgeschlagen, sinnvoll sind, müssen größere, multizentrische Studien zeigen. Da weder ein Standardvorgehen bezüglich der Anwendung von Immunsuppression oder Prophylaxen, noch eine einheitliche Durchführung der BAL existiert, können Cut-Off-Werte möglicherweise nur zentrumsspezifisch angewandt werden. Hinzu kommt, dass die wichtigsten Differentialdiagnosen, Infektionen und CLAD, immer bei der Bewertung der BAL berücksichtigt werden müssen, da sie, wie oben erwähnt, ähnliche Veränderungen in der zellulären Zusammensetzung hervorrufen können.

4.6.3 Zytokinmuster der BAL bei Vorliegen einer ACR

Die Konzentration von IL-8 stieg mit steigendem Schweregrad der akuten Abstoßung an, welche bei B0/B1 verglichen mit $B \geq 2$ signifikant war. Eine signifikant erhöhte IL-8-Konzentration war auch bei Patienten mit Infektion nachweisbar; bei Patienten mit BOS ergab sich kein Unterschied. Die Konzentration von IL-10 unterschied sich bei Vorliegen einer ACR oder Infektion nicht von der stabiler LTX-Patienten, war aber bei BOS-Patienten signifikant niedriger. Für die Konzentration an IL-17 in der BAL ergaben sich weder bei einer akuten Abstoßungsreaktion, noch bei einer Infektion oder BOS

signifikante Konzentrationsunterschiede. Gleiches erbrachte die Messung von IL-1 β und MIP-1 α .

4.6.3.1 Interleukin-1 β

Das Zytokin IL-1 β führt über eine Interaktion mit diversen Zielzellen (u.a. durch Stimulation der Produktion weiterer Zytokine, Recruitment von Neutrophilen, Makrophagen und Lymphozyten oder Induktion der Expression verschiedener Adhäsionsmoleküle) zu einer Zunahme von proinflammatorischen Prozessen (168, 290). Bezugnehmend auf das Thema Lungentransplantation konnte in verschiedenen Studien ein Zusammenhang zwischen einer erhöhten Konzentration an IL-1 β und IRI (224), Infektionen (v.a. CMV-Pneumonitis) (160, 168, 225) sowie verschiedenen Formen der CLAD (160, 226, 227) erbracht werden. Eine Assoziation von IL-1 β und der akuten Abstoßung wurde ebenfalls in einigen wenigen Studien nachgewiesen (167, 168, 227). Patella et al. untersuchten in einer prospektiven Studie 138 BALs von 20 LTX-Patienten auf die Konzentration bestimmter Zytokine während einer ACR bzw. Infektion im Vergleich zu stabilen LTX-Patienten. Maßgebliche Resultate waren deutlich erhöhte IL-1 β - und MIP1- α -Konzentrationen in der BAL von Patienten mit akuter Abstoßung verglichen mit denen ohne Abstoßung und Infektion, wenngleich auch während einer Infektion beide Zytokine erhöht waren (168). Wesentliche Einschränkungen der Studie waren allerdings die geringe Patientenanzahl (ACR-Gruppe: n = 9), der hohe Anteil von CF-Patienten (75% aller Studienpatienten) und die Definition der ACR. Die Diagnose einer ACR wurde nicht wie üblich anhand der zeitgleichen Durchführung einer TBB histologisch bestätigt, sondern anhand von klinischen Symptomen bzw. ausbleibendem Ansprechen auf eine antibiotische Therapie gestellt. Da das klinische Erscheinungsbild bei einer akuten Abstoßungsreaktion unspezifisch ist (139, 140), ist die Bewertung der Ergebnisse dieser Studie problematisch. Rizzo et al. beobachteten in ihrer Studie an 21 LTX-Patienten (ACR-Gruppe: n = 9, Infektions-Gruppe: n = 6, stabile LTX-Gruppe: n = 6) eine signifikant erhöhte Expression von IL-1 β (mRNA von Alveolarmakrophagen) bei Patienten mit Abstoßung im Vergleich zu stabilen LTX-Patienten. Zur Konfirmation der Ergebnisse wurden drei Patienten nach Durchführung einer Steroidstoßtherapie erneut bronchoskopiert mit dem Resultat einer deutlichen Abnahme der IL-1 β -Expression (167). Eine Aussage bezüglich der IL-1 β -Expression bei Infektionen ist dem Artikel nicht zu entnehmen. Limitationen dieser Studie waren ebenfalls die niedrige Patientenanzahl und die unklare Definition der ACR. Überraschenderweise lieferte die Studie von Fisichella et al. gegenteilige Ergebnisse. Bei dem Vergleich der Konzentration verschiedener Zytokine mit steigendem Schweregrad einer ACR Grad A gegen A0 ergab

sich eine signifikant abnehmende IL-1 β -Konzentration mit zunehmender Schwere der Abstoßung (227). Die Interpretation der Ergebnisse der genannten Studien in Zusammenschau mit den Ergebnissen unserer Untersuchung ist schwierig, da die Analyse von Zytokinen erheblichen Einflüssen ausgesetzt ist (siehe unter 4.6.4.1), die eine Vergleichbarkeit einzelner Studien nahezu unmöglich machen. Derzeit kann aus den vorliegenden Daten nur geschlossen werden, dass die Bestimmung von IL-1 β aufgrund der widersprüchlichen Studienergebnisse zur Unterscheidung von ACR, Infektion oder CLAD nicht sinnvoll erscheint.

4.6.3.2 Interleukin-8

Das Zytokin IL-8, welches hauptsächlich von Alveolarmakrophagen und respiratorischen Epithelzellen gebildet wird, ist hauptverantwortlich für die Chemotaxis neutrophiler Granulozyten. Potentielle Quelle für erhöhte IL-8-Konzentrationen in der BAL könnten demnach andauernde Epithelschäden sein (163, 229). Eine Assoziation zwischen erhöhten IL-8-Konzentrationen und dem Vorliegen einer Infektion (160, 168, 228) bzw. verschiedenen Formen der CLAD (160, 226–229) konnte in mehreren Studien eindeutig und konsistent nachgewiesen werden. Die IL-8-Konzentration korrelierte bei der CLAD mit der Anzahl an Neutrophilen in der BAL (213, 229). Trotz konsistenter Resultate der CLAD-Studien sind einzelne Ergebnisse aufgrund der unterschiedlichen Definitionen der chronischen Transplantatdysfunktion (bis 2014 allgemein als BOS bezeichnet, siehe unter 1.1.7.6) schwierig zu vergleichen. Ein Beispiel hierfür ist die Arbeit von Verleden et al.; die Autoren untersuchten verschiedene Untergruppen der CLAD und fanden nur bei Patienten mit neutrophilem BOS oder RAS eine erhöhte IL-8-Konzentration in der BAL, während bei Patienten mit BOS keine Erhöhung im Vergleich zu stabilen LTX-Patienten nachgewiesen werden konnte (226). In unserer Studie fand sich zwar eine erhöhte IL-8-Konzentration bei BOS-Patienten im Vergleich zu Nicht-BOS-Patienten, eine statistische Signifikanz wurde jedoch nicht erreicht. Eine Infektion war in unserer Studie jedoch eindeutig mit einem deutlichen Anstieg des IL-8-Levels in der BAL assoziiert.

Die Datenlage über die Rolle von IL-8 bei einer akuten Abstoßung ist nicht eindeutig. In fast allen Studien konnte zwar eine erhöhte Konzentration von IL-8 in der BAL von ACR-Patienten (Grad A) im Vergleich zu stabilen Lungentransplantierten nachgewiesen werden, eine statistische Signifikanz wurde jedoch in keiner Studie erreicht (162, 163, 168, 228, 229). Die Ergebnisse müssen jedoch mit Vorsicht interpretiert werden, da neben allgemeinen Einschränkungen der Zytokinbestimmung hier vor allem die unterschiedliche Definition der ACR (histologisch vs. klinisch, $A \geq 1$ vs. $A \geq 2$ vs.

fehlende Definition der ACR, Berücksichtigung der LB) und die unterschiedliche Wichtung von *Confoundern* (z. B. Definition der Infektion, Berücksichtigung der CLAD) eine Rolle spielen. Die Daten unserer Studie ergaben einen signifikanten Zusammenhang zwischen einem erhöhten IL-8 in der BAL und dem Vorliegen einer schweren Grad B-Abstoßung. Die Konzentration an IL-8 war bei der LB erhöht und stieg proportional mit steigendem Schweregrad der Abstoßung weiter an. Eine einzige weitere Studie befasste sich indirekt mit der LB und der Konzentration an IL-8 in der BAL. Bei Verleden et al. war die Konzentration von IL-8 in der BAL bei Vorliegen einer lymphozytären Bronchiolitis im Vergleich zu stabilen LTX-Patienten signifikant erhöht (230). Diese Ergebnisse sind mit o.g. Neutrophilie bei LB gut vereinbar, da IL-8 der entscheidende Faktor für die Neutrophilen-Chemotaxis ist. Wie bereits erwähnt, konnte durch die Anwendung von Azithromycin bei LB-Patienten eine Reduktion von IL-8 und Neutrophilen in der BAL erzielt und die Atemwegsinflammation therapiert werden (230, 286). Dies könnte eine mögliche Therapiealternative bei Makrolid-naiven Patienten oder fehlendem Therapieansprechen auf systemische Kortikosteroide in der Behandlung der lymphozytären Bronchiolitis darstellen.

4.6.3.3 Interleukin-10

IL-10 ist ein Zytokin mit antiinflammatorischer und immunmodulatorischer Aktivität. Es begrenzt die inflammatorische Reaktion des Körpers u. a. durch die Inhibierung von T-Lymphozyten, Makrophagen und Zytokinen. Die Rolle von IL-10 bei der Immunantwort Lungentransplantierter ist unklar (290). Eine Studie von Zheng et al. suggeriert jedoch einen gewissen protektiven Effekt, da vermehrt IL-10 produzierende Genotypen weniger häufig eine ACR erlitten als andere (136). Die Gabe von IL-10 führte in Tierstudien zu einer Abnahme von IRI, ACR Grad A und BOS (291). Die Bedeutung von IL-10 bei humanen Lungentransplantierten im klinischen Setting ist im Vergleich zu anderen Zytokinen wenig untersucht. Bei Vorliegen einer CMV- oder bakteriellen Infektion fand sich in der Studie von Patella et al. keine Veränderung der IL-10-Konzentration in der BAL im Vergleich zu stabilen LTX-Patienten (168). Diese Daten decken sich mit denen unserer Studie. Das Vorhandensein eines BOS führte in der Studie von Fisichella et al. zu keiner signifikanten Veränderung der IL-10-Konzentration (227). Hier wiederum erbrachte unsere Studie ein anderes Ergebnis. Die IL-10-Konzentration in der BAL war bei Patienten mit BOS im Vergleich zu denen ohne BOS signifikant erniedrigt. Dieses Ergebnis ergibt in Anbetracht der antiinflammatorischen und immunmodulatorischen Funktion von IL-10 durchaus Sinn. Es kann zum einen postuliert werden, dass Patienten mit geringeren IL-10-Spiegeln weniger Schutz vor Inflammation und damit der

Entwicklung eines BOS haben, zum anderen könnten erniedrigte IL-10-Spiegel für eine fehlende oder verminderte Herabregulation von anti-IL-10 bei BOS-Patienten sprechen. Unterstützt wird diese Hypothese durch experimentelle Tierstudien, in denen gezeigt werden konnte, dass die Gabe von anti-IL-10 zu einer rascheren Entwicklung einer OB führte, während Infusionen von IL-10 einen protektiven Effekt hatten (292).

Klinische Daten über die Rolle von IL-10 bei einer akuten Abstoßung sind widersprüchlich. Fisichella et al. fanden eine Abnahme der IL-10-Konzentration in der BAL mit zunehmendem Schweregrad einer ACR Grad A (227). In der Studie von Patella et al. wiederum war die IL-10-Konzentration bei einer ACR im Vergleich zu stabilen LTX-Patienten bzw. Patienten mit CMV- oder bakteriellen Infektionen erhöht (168). Die Definition der ACR, wie bereits oben erwähnt, beruhte in dieser Studie allerdings ausschließlich auf der klinischen Einschätzung und wurde nicht histologisch bestätigt. Dies schränkt die Bewertung der Ergebnisse erheblich ein. In zwei weiteren Studien korrelierte die mRNA-Expression für IL-10 nicht mit dem Vorliegen einer ACR (174, 175). Dies stimmt mit den Resultaten unserer Studie überein; auch hier konnte kein Zusammenhang zwischen der IL-10-Konzentration in der BAL und der ACR Grad A oder B nachgewiesen werden. In Zusammenschau der verfügbaren Studien ist IL-10 zur Detektion einer ACR somit kein sinnvoller Parameter.

4.6.3.4 Interleukin-17

Dem proinflammatorischen Zytokin IL-17, das von T-Lymphozyten (v. a. CD4⁺-T-Zellen) produziert wird, wird eine wichtige Rolle in Bezug auf Abwehrmechanismen, Immunantwort und Atemwegsremodeling zugeschrieben. Es stimuliert multiple andere Zellen zur Expression von antimikrobiellen Proteinen und der Produktion von diversen Zytokinen (u. a. IL-1 β und IL-6). Zudem ist IL-17 in der Lage, entweder direkt oder indirekt über die Produktion von IL-8, die Migration und Aktivierung neutrophiler Granulozyten zu induzieren (162, 290, 293). Aufgrund dieser Eigenschaften untersuchten einige Studien den Zusammenhang zwischen IL-17 und der akuten bzw. chronischen Transplantatabstoßung; dennoch ist die Rolle von IL-17 bei beiden Entitäten weiterhin unklar. Vanaudenaerde et al. fanden in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen einer erhöhten IL-17-mRNA und dem Vorliegen eines BOS bzw. einer Infektion im Vergleich zu stabilen LTX-Patienten (231). Andere Studien konnten dies nicht bestätigen (226, 227), wobei Fisichella et al. nachwiesen, dass eine erhöhte IL-17-Konzentration 6-12 Monate nach Transplantation eine BOS-Entwicklung innerhalb der nächsten 30 Monate prognostizieren kann (227). In unserer Studie wurde keinerlei Assoziation zwischen IL-17 und BOS bzw. einer Infektion nachgewiesen. Neben den allgemeinen

Schwierigkeiten bei der Auswertung von Zytokinen, könnten speziell bei der Bewertung von IL-17 weitere Faktoren eine Rolle spielen, die für die unterschiedlichen Studienergebnisse (mit-) verantwortlich sind. Zum einen liegt die Bestimmung der IL-17-Konzentration mit konventionellen Messmethoden häufig am unteren Detektionslimit oder gar darunter, zum anderen wurden in einzelnen Studien möglicherweise verschiedene Subtypen von IL-17 untersucht (213, 226, 286). Die Interleukin-17-Familie besteht aus sechs strukturell verwandten Mitgliedern, IL-17A bis IL-17F, welche erst in jüngster Zeit entdeckt und dekodiert wurden (294).

Die Daten über IL-17 im Zusammenhang mit einer ACR sind ebenfalls widersprüchlich. Vanaudenaerde et al. untersuchten 26 LTX-Patienten (ACR-Gruppe: $n = 9$, Kontroll-Gruppe: $n = 17$) an Tag 28 und 90 nach Transplantation auf eine Assoziation zwischen der IL-17-Konzentration (Protein und mRNA) in der BAL und einer akuten Abstoßung, definiert als $A \geq 1$. Sie fanden eine signifikant höhere IL-17-mRNA in der ACR-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe an Tag 28, nicht aber an Tag 90. Für die IL-17-Protein-Konzentration in der BAL waren die Veränderungen zu beiden Untersuchungszeitpunkten nicht signifikant. Im Gegenteil, an Tag 28 war die IL-17-Konzentration in der ACR-Gruppe im Vergleich zur Kontroll-Gruppe zwar höher, an Tag 90 kehrte sich das Verhältnis jedoch um. An Tag 28 korrelierte die Konzentration von IL-17 (mRNA und Protein) mit dem Schweregrad der Abstoßung (162). Eine Einschränkung dieser Studie ist die niedrige Patientenzahl. Zudem wurde nur an Tag 28 eine histologische Kontrolle zur Bestätigung einer ACR durchgeführt. Eine andere Studie untersuchte den Zusammenhang zwischen der Anzahl an IL-17⁺-Zellen in der endobronchialen Biopsie und einer akuten Abstoßungsreaktion und konnten einen solchen nicht bestätigen (295). Husain et al. konnten ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen einer ACR und der IL-17-Konzentration in der BAL detektieren (296). Daten zu IL-17 und LB sind limitiert. Eine interessante Studie von Verleden et al. untersuchte diesen Zusammenhang und verglich die Anzahl an IL-17⁺-Zellen in der Submukosa der Atemwege von stabilen LTX-Patienten mit denen von LB, ACR Grad A, Infektion und BOS. In der LB-Gruppe (nicht aber in der ACR Grad A-Gruppe) fanden sich signifikant mehr IL-17⁺-Zellen ($B2R > B1R$) als in den anderen Gruppen. Diese korrelierten mit der prozentualen Anzahl an Neutrophilen in der BAL. Interessanterweise war der prozentuale Anteil an Lymphozyten nicht erhöht (230). Von den LB-Patienten waren ein Drittel bereits unter Therapie mit Azithromycin, bei ihnen ließ sich keine Erhöhung der IL-17⁺-Zellen nachweisen. Dies könnte eine Erklärung für die diskrepanten Befunde zu unserer Studie sein. Neben der Tatsache, dass unterschiedliche Medien untersucht wurden (Anzahl IL-17⁺-Zellen in der TBB vs. IL-17-Konzentration in der BAL), waren alle Teilnehmer unserer Studie bereits unter Therapie mit Azithromycin. Dennoch scheint

IL-17, vor allem unter Berücksichtigung der Pathophysiologie, ein vielversprechender Parameter im Hinblick auf die Detektion einer LB zu sein, insbesondere für diejenigen Patienten, die nicht unter Therapie mit Azithromycin stehen. Da diese Therapie nachweislich sowohl IL-17⁺-Zellen als auch die Anzahl an Neutrophilen und die Konzentration an IL-8 in der BAL reduziert, könnte dies zukünftig, wie bereits oben erwähnt, eine weitere Therapieoption für LB-Patienten darstellen.

4.6.3.5 MIP-1 α

Das Zytokin MIP-1 α , auch CCL3 genannt, gehört zur Familie der Chemokine. Es wird hauptsächlich durch Makrophagen gebildet und ist Bestandteil der Immunantwort bei einer Infektion oder Inflammation. MIP-1 α aktiviert Granulozyten und induziert die Bildung anderer proinflammatorischer Zytokine. Nach Lungentransplantation ist die Rolle von MIP-1 α in Bezug auf Infektion, ACR oder CLAD bis dato wenig untersucht. In der Studie von Fisichella et al. konnte MIP-1 α weder mit einer akuten Abstoßung noch mit dem Vorliegen eines BOS in Verbindung gebracht werden (227). Dies deckt sich mit den Ergebnissen unserer Studie. Auch hier war keine Assoziation zwischen der Konzentration von MIP-1 α und dem Vorliegen einer Infektion, einer ACR oder eines BOS ersichtlich. Zu einem anderen Ergebnis kommt die Studie von Patella et al., in dieser war die Konzentration von MIP-1 α bei Patienten mit ACR im Vergleich zu stabilen LTX-Patienten erhöht (168). Ebenso war MIP-1 α beim Vorliegen einer Infektion erhöht (168). Aufgrund der limitierten Datenlage und den inkonsistenten Studienergebnissen erscheint die Bestimmung von MIP-1 α in der BAL zur Detektion einer ACR derzeit nicht sinnvoll.

4.6.4 Problematik bei der Bewertung von BAL-Proben lungentransplantierter Patienten

Die Bewertung und Interpretation von LTX-Studien ist aufgrund multipler Faktoren herausfordernd. Bedingt durch diverse Einflussfaktoren (LTX-Indikation, Alter bei Transplantation, CMV-Status u. v. m.) repräsentieren Lungentransplantierte im Allgemeinen eine sehr heterogene Gruppe. Hinzu kommen fehlende Standards bei der postoperativen Versorgung und Betreuung. So sind beispielsweise die Anwendung einer Induktionstherapie, die Wahl der Dauerimmunsuppression, die Art und Dauer der antimykotischen und antiviralen Prophylaxe sowie der Zeitpunkt des Beginns mit Azithromycin uneinheitlich und zentrumsspezifisch. Jedem dieser Faktoren kann ein Einfluss auf Studienergebnisse betreffend Infektion, ACR oder BOS unterstellt werden.

Bei der Beurteilung der ACR kommen weitere komplizierende Faktoren hinzu. In den meisten Studien wurde nur die ACR Grad A bewertet, während die ACR Grad B nicht berücksichtigt wurde (162–164, 227). Zudem war die Definition der ACR Grad A uneinheitlich; so erachteten einige Autoren $A \geq 1$ als relevant (162–164, 228), andere wiederum $A \geq 2$ (164). In einigen Studien fand sich gar keine Definition der ACR (167, 168, 229, 296). Daten über die lymphozytäre Bronchiolitis sind wesentlich limitierter. Neben den gleichen Problemen wie bei der ACR Grad A, kommt bei der Bewertung der LB noch hinzu, dass die ISHLT 2006 eine revidierte Definition derselben einführte (148). Dennoch wird diese Definition auch seit 2006 nicht einheitlich verwendet (230, 285). In unserer Studie wurden daher neben einer distinkten Betrachtung der ACR Grad A und B auch die verschiedenen Versionen der LB berücksichtigt. Eine weitere Schwierigkeit bei der Interpretation von Ergebnissen der ACR-Studien ist, dass die Diagnose der ACR auf unterschiedlichen Grundlagen gestellt wurde. Hauptsächlich basierte die Diagnose auf der histologischen Begutachtung transbronchialer Biopsien, teilweise wurde die Diagnose allerdings auch durch eine rein klinische Einschätzung gestellt (168). Zudem wurden potentielle Störfaktoren, die einen Einfluss auf die Bewertung der ACR haben könnten, in verschiedenen Studien unterschiedlich gewichtet. Zu diesen zählen insbesondere eine simultan vorliegende Infektion, das Vorhandensein einer CLAD oder auch die gegenseitige Beeinflussung der Grad A- und B-Abstoßung. Die beiden Letztgenannten wurden in den allermeisten BAL-Studien nicht berücksichtigt (142, 162–164, 166–168, 227, 296). Der Einfluss einer Infektion auf die ACR wurde zwar durch die meisten Autoren als relevant erachtet, bezüglich der Diagnosekriterien einer Infektion bestand jedoch keinerlei Übereinstimmung. Hauptgrund hierfür ist das Fehlen einer standardisierten Definition der Infektion bei lungentransplantierten Patienten. So wurde in manchen Studien die Infektion gar nicht berücksichtigt (166, 295), in anderen Studien galt jeder Keimnachweis in der BAL als Infektion (164, 229). Manche nutzten den histologischen Nachweis (285) und wieder andere erläuterten ihre Definition der Infektion gar nicht (142, 167, 227, 230). Ebenso herrschte kein Konsens darüber, welche Art der Infektion (Bakterien/Pilze/Viren) berücksichtigt werden sollte. Ein Unterpunkt dieser Studie bestand daher in der Etablierung einer allgemeingültigen, ubiquitär anwendbaren Definition der Infektion bei lungentransplantierten Patienten (siehe unter 2.2.5.1). Die zentrumsübergreifende Anwendung einer standardisierten Definition würde nicht nur die Vergleichbarkeit von Studien erleichtern oder gar erst möglich machen, sondern auch die Interobserver-Variabilität reduzieren. In unserer Studie wurden sowohl bakterielle als auch mykotische und virale Infektionen berücksichtigt.

Die inkonsistenten Ergebnisse der einzelnen Studien in Bezug auf Zellzahl bzw. -differenzierung und Zytokinen in der BAL sind nicht zuletzt auch durch unterschiedliche methodische Ansätze in der Durchführung und Auf- bzw. Verarbeitung der bronchoalveolären Lavage bedingt. Obwohl die BAL zur Routineuntersuchung bei LTX-Patienten gehört, existiert auch diesbezüglich keine Standardisierung (160). So unterscheiden sich beispielsweise Vorbereitung (u. a. Anästhesieverfahren), Durchführung und Ablauf (u. a. Spülvolumen, Spüllösung, Ort der Lavage) und Nachbearbeitung. Die Recovery und damit Zellkomposition und -konzentration ist abhängig vom Spülvolumen und dem Ort der Lavage (160). Vanaudenaerde et al. konnten in einer Studie über BAL-Recovery zeigen, dass eine Abnahme der Recovery mit einer Zunahme des prozentualen Anteils an Neutrophilen und der Konzentration an IL-8 einhergeht (228). Diese Besonderheiten erschweren den direkten Vergleich einzelner Studien erheblich. Daher ist auch die generalisierte Implementierung und Anwendung einzelner oder mehrerer Cut-Off-Werte von Zellen oder Zytokinen aus der BAL zur Erleichterung der Diagnosestellung einer ACR, wie beispielsweise von Greenland et al. empfohlen (164), schwierig. Hinzu kommt, dass sich Zell- und Zytokinmuster abhängig vom Untersuchungszeitpunkt nach Transplantation erheblich unterscheiden (142, 162, 168). Darüber hinaus haben die Studien zumeist retrospektiven Charakter und stellen Single-Center-Erfahrungen dar (161).

4.6.4.1 Spezielle Problematik bei der Bewertung von Zytokinen in BAL-Proben lungentransplantierter Patienten

Auch den Zytokinmessmethoden mangelt es an Standardisierung und Reproduzierbarkeit. Der Großteil der Studien nutzte zwar Immunassays (v. a. ELISA), dennoch existieren daneben eine ganze Reihe alternativer Messmethoden, die Vergleiche verschiedener Studien erschweren (297). Zudem sind unzählige ELISA-Kits erhältlich, die sich hinsichtlich ihrer Sensitivität erheblich voneinander unterscheiden, was wiederum in einer deutlichen Variation der Endkonzentrationen einzelner Zytokine resultiert (176, 297). Hinsichtlich der Bewertung von Zytokinmustern einzelner Studien muss zuletzt noch erwähnt werden, dass neben den o.g. *Confoundern* auch die Anwendung von Azithromycin einen Einfluss auf deren Konzentration hat. Durch seine immunmodulatorische Wirkung führt Azithromycin zu einer Zytokinsuppression (298). Dies könnte ein Grund für die niedrige Konzentration einiger Zytokine aus unserer Studie sein. In jedem Fall muss dies beim Vergleich einzelner Studien mitberücksichtigt werden.

4.6.5 Zusammenfassung der BAL-Ergebnisse

In Zusammenschau der in unserer Studie erhobenen BAL-Befunde und unter Einbeziehung der in anderen Studien erhobenen Ergebnisse, scheint eine Erhöhung der Gesamtzellzahl sowie ein prozentualer Anstieg der Neutrophilen (mit konsekutivem Abfall der Makrophagen) und Eosinophilen, falls vorhanden, mit einem gleichzeitigen Anstieg der IL-8-Konzentration in der BAL für das Vorliegen einer lymphozytären Bronchiolitis bei simultanem Ausschluss einer Infektion zu sprechen. Eine Erhöhung der IL-17-Konzentration könnte bei Patienten, die nicht unter Therapie mit Azithromycin stehen, zusätzliche Hinweise auf das Vorliegen einer LB liefern. Ein Anstieg der Lymphozyten scheint hingegen eher, nach Ausschluss einer Infektion, für eine akute Abstoßung Grad A zu sprechen. Zum Ausschluss einer Infektion könnte die durch uns erstellte Definition beitragen. Damit die BAL-Zusammensetzung zur Diagnosestellung oder –unterstützung einer ACR genutzt werden kann, müssen Cut-Off-Werte definiert und Sensitivität, Spezifität sowie prädiktive Werte ermittelt werden. Dann könnte das BAL-Muster als Ergänzung zur TBB eingesetzt oder als Entscheidungshilfe bei der Frage nach einer Therapieinitiierung bei leichtgradiger Abstoßung in der TBB (A1 oder B1 bzw. B1R) verwendet werden. Aufgrund der geringeren Invasivität wäre die BAL auch als Ersatz für die TBB denkbar und würde insbesondere für diejenigen Patienten, die aufgrund einer schweren Allgemeinerkrankung keine TBB erhalten können, eine geeignete Alternative darstellen. Damit dieses Verfahren etabliert werden kann, müssen zukünftig größere, prospektive Studien unter Berücksichtigung aller Besonderheiten der speziellen Population (Zeitpunkt nach LTX, Infektion, CLAD) durchgeführt werden. Aufgrund der bereits genannten zahlreichen zentrumsspezifischen Besonderheiten ist es fraglich, ob die Entwicklung von Cut-Off-Werten für Zellen und Zytokine in der BAL auf andere Zentren übertragbar wäre. Um dies möglich zu machen, müssten postoperative Versorgung, Diagnostik, Methodik etc. standardisiert und validiert werden.

Zusammenfassend kann das Zell- und Zytokinmuster der bronchoalveolären Lavage die TBB (noch) nicht ersetzen, vermag aber (zentrumsspezifisch) die diagnostische Ausbeute der Bronchoskopie in Bezug auf eine ACR zu verbessern.

5. Zusammenfassung

Die Lungentransplantation (LTX) ist die letzte Therapieoption im Endstadium einer fortgeschrittenen und nicht-heilbaren Lungenerkrankung. Seit der ersten LTX am Menschen im Jahr 1963 sind auf dem Gebiet der Lungentransplantationsforschung erhebliche Fortschritte erzielt worden. Dennoch sind die Langzeitüberlebensraten, verglichen mit anderen Organtransplantationen, weiterhin verhältnismäßig niedrig. Dies wird vor allem der Entwicklung eines Bronchiolitis-Obliterans-Syndroms (BOS) zugeschrieben, welches fünf Jahre nach Transplantation etwa die Hälfte aller Transplantierten betrifft. Hauptrisikofaktor für das Auftreten eines BOS ist die akute Transplantatabstoßung (*acute cellular rejection*, ACR). Die ACR kann zum einen die kleinen Blutgefäße und Kapillaren (Grad A), zum anderen die kleinen Atemwege (Grad B bzw. BR) betreffen. Über Risikofaktoren der ACR ist bis dato noch wenig bekannt. Die Diagnose wird anhand der histopathologischen Beurteilung transbronchialer Biopsien (TBB) gestellt, die im Rahmen von Bronchoskopien gewonnen werden.

Neben der Ausarbeitung transplantationsrelevanter Daten mit Fokussierung der Infektion und akuten Transplantatabstoßung am UKGM Gießen und dem Vergleich der erhobenen Daten mit anderen Transplantationszentren, lag ein weiteres Hauptaugenmerk der Promotionsarbeit auf der Untersuchung von infektionsbedingten Risikofaktoren für das Auftreten einer ACR. Außerdem wurde die bronchoalveoläre Lavage (BAL) auf die Zell- und Zytokinzusammensetzung bei Vorliegen einer ACR untersucht und mit dem Zytokinmuster bei Infektionen und BOS verglichen. Insgesamt standen für die Studie 450 Bronchoskopien, davon 435 mit TBB, von 89 LTX-Patienten zur Verfügung. Die Zytokinmessungen in der BAL (Interleukin (IL)-1 β , IL-8, IL-10, IL-17 und *macrophage inflammatory protein* (MIP)-1 α) erfolgten mittels *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA).

Die bakterielle Pneumonie und der Nachweis ambulant erworbener Viren (*community-acquired respiratory virus*, CARV) in der BAL konnten als eindeutige Risikofaktoren für das Auftreten einer ACR identifiziert werden. Hierbei waren die Ergebnisse hinsichtlich einer Assoziation von akuter Transplantatabstoßung Grad B bzw. BR sowohl bei der bakteriellen Pneumonie ($p < 0,001$ bzw. $p < 0,01$) als auch bei CARV ($p < 0,001$ bzw. $p < 0,001$) signifikant, Grad A erreichte nur im Falle der bakteriellen Pneumonie Signifikanzniveau ($p < 0,01$). Daten aus anderen Zentren liefern diesbezüglich widersprüchliche Ergebnisse. Gründe für diese Diskrepanzen liegen unter anderem in einer fehlenden Standardisierung der Definition einer Infektion bei Lungentransplantierten, der unterschiedlichen Interpretation einer ACR und der

Schwierigkeit der histologischen Diskriminierung zwischen Infektion und ACR. Dennoch legen unsere Daten einen Zusammenhang zwischen einem CARV-Nachweis in der BAL und dem Auftreten einer ACR nahe – ein engmaschiges Surveillanceprogramm könnte daraus abgeleitet für CARV-positive Patienten von klinischem Nutzen sein. Zukünftige Forschungen auf diesem Gebiet könnten ferner eruieren, ob eine spezifische Intervention bei genannten Patienten zu einer Reduktion der Auftretenswahrscheinlichkeit einer ACR bzw. eines BOS führt.

Die Rationale zur potentiellen Verwendung der bronchoalveolären Lavage anstelle oder ergänzend zur transbronchialen Biopsie im Rahmen der Abstoßungsdiagnostik ergibt sich durch mehrere relevante Einschränkungen der alleinigen histopathologischen Beurteilung. Neben dem Risiko der Invasivität, spielen inadäquate Proben sowie eine geringe Interrater- und Intrarater-Reabilität eine Rolle.

Die im Rahmen dieser Studie untersuchten Zellzahlen bzw. Zytokinkonzentrationen in der BAL waren zum Teil hochsignifikant mit dem Auftreten einer ACR und darüber hinaus mit den verschiedenen Schweregraden assoziiert. Sowohl die Gesamtzellzahl als auch der prozentuale Anteil an Neutrophilen der BAL waren schweregradabhängig bei Vorliegen einer akuten Abstoßung der Atemwege erhöht (Grad B, $p < 0,01$ bzw. BR, $p < 0,001$ und Grad B bzw. BR, $p < 0,01$) und der Anteil an Makrophagen konsekutiv erniedrigt (Grad B bzw. BR, $p < 0,01$). Eosinophile waren, wenn nachweisbar, ebenfalls mit dem Vorliegen einer ACR assoziiert (Grad B, $p < 0,001$). Im Falle der ACR Grad A konnte ein Anstieg des prozentualen Anteils an Lymphozyten dokumentiert werden ($p < 0,05$). In der Zytokinanalyse war IL-8 bei einer schweren ACR Grad B ($p < 0,05$) und bei Vorliegen einer Infektion ($p < 0,01$) erhöht, IL-10 bei Patienten mit BOS erniedrigt ($p < 0,05$). Für alle weiteren Zytokinmessungen ergaben sich weder bei ACR, noch bei Infektionen oder BOS signifikante Zusammenhänge.

Trotz aller Limitationen in der Beurteilung einer ACR bzw. der bronchoalveolären Lavage und der Nichtexistenz zentrumsübergreifender Standards, sprechen in Zusammenschau dieser und anderer Studien eine erhöhte Gesamtzellzahl mit prozentualem Anstieg der Neutrophilen und Eosinophilen, gemeinsam mit einer erhöhten IL-8-Konzentration und *nach Ausschluss einer Infektion* für das Vorliegen einer ACR Grad B. Demgegenüber gibt ein prozentualer Anstieg der Lymphozyten eher Hinweise auf das Vorliegen einer ACR Grad A (ebenfalls nach Ausschluss einer Infektion). Vor Etablierung eines bronchoalveolären Zell- und Zytokinmusters im Rahmen der ACR-Diagnostik, sollten weitere prospektive, multizentrische Studien nach standardisiertem Vorgehen durchgeführt werden.

6. Summary

Lung transplantation (LTX) is the final therapy option in end-stage lung diseases. There has been significant advancement in the field of LTX since the first human lung transplantation in 1963. The long-term survival, however, remains relatively low compared to other solid organ transplantations. This is in particular attributed to the development of bronchiolitis-obliterans syndrome (BOS), affecting almost half of the transplant recipients five years after transplantation. Primary risk factor for the occurrence of BOS is the acute cellular rejection (ACR). ACR can affect the small and capillary blood vessels (grade A) and/or the small airways (grade B and BR). Little is known about the risk factors for ACR. Diagnosis is based on the histopathologic evaluation of transbronchial biopsies (TBB) which are bronchoscopically obtained.

Besides the analysis of transplant-relevant data focused on infection and acute transplant rejection at the UKGM Gießen and the comparison of accumulated data to that of other transplant centers, the evaluation of infection-associated risk factors for the development of ACR was another focus of the dissertation. Moreover, the bronchoalveolar lavage (BAL) was examined in respect to cellular and cytokine composition in presence of ACR and compared to the cytokine profile of infections and BOS. In total, 450 bronchoscopies from 89 LTX-patients were evaluated for this study, thereof 435 with TBB. BAL cytokines (interleukin (IL)-1 β , IL-8, IL-10, IL-17 and macrophage inflammatory protein (MIP)-1 α) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

Bacterial pneumonia and evidence of community-acquired respiratory virus (CARV) in the BAL were identified as unambiguous risk factors for the development of ACR. Statistically significant results were obtained for an association of acute transplant rejection grade B and BR with bacterial pneumonia ($p < 0.001$ and $p < 0.01$ respectively) as well as with CARV ($p < 0.001$ and $p < 0.001$ respectively). Grade A transplant rejection reached the level of statistical significance ($p < 0.01$) only in the case of bacterial pneumonia. Relating to this matter, data from other centers are inconsistent. Reasons for this discrepancy are for instance the missing standardized definition of infection in transplant recipients, the different interpretation of ACR and the difficulty in the histopathologic discrimination between infection and ACR. However, our data suggests a correlation between CARV-evidence in BAL and the development of ACR – a close surveillance program for CARV-positive patients could be of clinical value. Further research in this field may evaluate, if a specific intervention in these patients could lead to a reduction of the probability of occurrence of ACR and BOS.

The rationale for the potential use of BAL instead of or additionally to transbronchial biopsy in the diagnosis of rejection derives from diverse relevant limitations of the sole histopathologic evaluation. Inadequate material and low inter-rater and intra-rater reliability play a role, aside from the risk of invasive procedure.

The BAL cell counts and cytokine concentrations evaluated in this study were significantly correlated with the appearance of ACR. Both the total cell count and the percentage of neutrophils in the BAL were increased dependent to the grade of acute rejection (grade B, $p < 0.01$ and BR, $p < 0.001$ and grade B and BR, $p < 0.01$ respectively), the percentage of macrophages consecutively decreased (grade B and BR, $p < 0.01$). Eosinophils were, when detectable, also associated with the appearance of ACR (grade B, $p < 0.001$). In the case of grade A ACR, there was an increase in the percentage of lymphocytes ($p < 0.05$). Cytokine analysis revealed an increase of IL-8 in case of severe ACR grade B ($p < 0.05$) and in case of infection ($p < 0.01$), IL-10 was decreased in patients with BOS ($p < 0.05$). All other cytokine measurements revealed no significant correlations to ACR or infections or BOS.

Despite all limitations in the evaluation of ACR or bronchoalveolar lavage and the non-existence of generally accepted standards, an increased total cell count, percentage of neutrophils and eosinophils together with an increase of IL-8 *after the exclusion of infection* support the diagnosis of ACR grade B. An increase of the percentage of lymphocytes rather supports the diagnosis of ACR grade A (also after the exclusion of infection). Further prospective multicenter studies with a standardized protocol should be designed to establish a bronchoalveolar lavage cell count and cytokine pattern in the diagnosis of ACR.

7. Literaturverzeichnis

- 1 Shumacker H. A surgeon to remember, Notes about Vladimir Demikhov. *Ann Thorac Surg* 1994; 58(4):1196–8.
- 2 Margreiter R. History of Lung and Heart-Lung Transplantation, With Special Emphasis on German-Speaking Countries. *Transplant Proc* 2016; 48(8):2779–81.
- 3 Hardy J . Re-implantation and homotransplantation of the lung, Laboratory studies and clinical potential, 1963.
- 4 Hardy J. The first lung transplant in man (1963) and the first heart transplant in man (1964). *Transplant Proc* 1999; 31(1-2):25–9.
- 5 Vermeire P, Tasson J, Lamont H et al. Respiratory function after lung homotransplantation with a ten-month survival in man. *Am Rev Respir Dis* 1972; 106(4):515–27.
- 6 Yeung J, Keshavjee S. Overview of clinical lung transplantation. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2014; 4(1):a015628.
- 7 Lima O, Cooper J, Peters W et al. Effects of methylprednisolone and azathioprine on bronchial healing following lung autotransplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1981; 82(2):211–5.
- 8 Saunders N, Egan T, Chamberlain D et al. Cyclosporin and bronchial healing in canine lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1984; 88(6):993–9.
- 9 Cooper J. The evolution of techniques and indications for lung transplantation. *Ann Surg* 1990; 212(3):249-55; discussion 255-6.
- 10 Cooper J, Patterson G, Grossman R et al. Double-lung transplant for advanced chronic obstructive lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139(2):303–7.
- 11 Canadian Medical Association Journal. First double-lung transplant recipient dies: *Canadian Medical Association Journal*, 2001.
- 12 Meyers B, Lynch J, Trulock E et al. Lung transplantation, A decade of experience. *Ann Surg* 1999; 230(3):362-70; discussion 370-1.

- 13 Kaiser L, Pasque M, Trulock E et al. Bilateral sequential lung transplantation, The procedure of choice for double-lung replacement. *Ann Thorac Surg* 1991; 52(3):438-45; discussion 445-6.
- 14 Chambers D, Yusef R, Cherikh W et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation, Thirty-fourth Adult Lung And Heart-Lung Transplantation Report-2017; Focus Theme: Allograft ischemic time. *J Heart Lung Transplant* 2017; 36(10):1047–59.
- 15 Eurotransplant Statistics Report Library. Lung transplants in Germany: Eurotransplant, 2016.
- 16 Yusef R, Edwards L, Dipchand A et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation, Thirty-third Adult Lung and Heart-Lung Transplant Report-2016; Focus Theme: Primary Diagnostic Indications for Transplant. *J Heart Lung Transplant* 2016; 35(10):1170–84.
- 17 Sayegh M, Carpenter C. Transplantation 50 years later--progress, challenges, and promises. *N Engl J Med* 2004; 351(26):2761–6.
- 18 Lund L, Khush K, Cherikh W et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation, Thirty-fourth Adult Heart Transplantation Report-2017; Focus Theme: Allograft ischemic time. *J Heart Lung Transplant* 2017; 36(10):1037–46.
- 19 Merlo C, Orens J. Candidate selection, overall results, and choosing the right operation. *Semin Respir Crit Care Med* 2010; 31(2):99–107.
- 20 Russo M, Worku B, Iribarne A et al. Does lung allocation score maximize survival benefit from lung transplantation? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 141(5):1270–7.
- 21 Branger P, Samuel U. Annual Report 2016. Eurotransplant International Foundation, Eurotransplant - Together on a life-saving mission.
- 22 Eurotransplant Statistics Report Library. Lung waiting list registrations, by year, by country: Eurotransplant, 2016.
- 23 Eurotransplant Statistics Report Library. Lung waiting list removals, by year, by country, by reason: Eurotransplant, 2016.

- 24 Weill D, Benden C, Corris P et al. A consensus document for the selection of lung transplant candidates, 2014--an update from the Pulmonary Transplantation Council of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2015; 34(1):1–15.
- 25 Kamler M, Pizanis N. Aktueller Stand der Lungentransplantation, Indikation, Technik, Ergebnisse. *Zeitschrift für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie* 2013; 27(4):235–42.
- 26 Shah P, Orens J. Guidelines for the selection of lung-transplant candidates. *Curr Opin Organ Transplant* 2012; 17(5):467–73.
- 27 Soyza A de, Meachery G, Hester K et al. Lung transplantation for patients with cystic fibrosis and *Burkholderia cepacia* complex infection, A single-center experience. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29(12):1395–404.
- 28 Olland A, Falcoz P-E, Kessler R et al. Should cystic fibrosis patients infected with *Burkholderia cepacia* complex be listed for lung transplantation? *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2011; 13(6):631–4.
- 29 Bundesärztekammer. Richtlinien zur Organtransplantation gem. § 16 TPG, Richtlinie gemäß § 16 Abs. 1 S. 1 Nrn. 2 u. 5 TPG für die Wartelistenführung und Organvermittlung zur Lungentransplantation, 2017.
- 30 Egan T, Murray S, Bustami R et al. Development of the new lung allocation system in the United States. *Am J Transplant* 2006; 6(5 Pt 2):1212–27.
- 31 Egan T, Edwards L. Effect of the lung allocation score on lung transplantation in the United States. *J Heart Lung Transplant* 2016; 35(4):433–9.
- 32 Gottlieb J, Greer M, Sommerwerck U et al. Introduction of the lung allocation score in Germany. *Am J Transplant* 2014; 14(6):1318–27.
- 33 Gottlieb J, Smits J, Schramm R et al. Lung Transplantation in Germany Since the Introduction of the Lung Allocation Score. *Dtsch Arztebl Int* 2017; 114(11):179–85.
- 34 Valapour M, Paulson K, Smith J et al. OPTN/SRTR 2011 Annual Data Report, Lung. *Am J Transplant* 2013; 13 Suppl 1:149–77.
- 35 Gottlieb J. Lung allocation. *J Thorac Dis* 2017; 9(8):2670–4.

- 36 Game D, Lechler R. Pathways of allorecognition, Implications for transplantation tolerance. *Transpl Immunol* 2002; 10(2-3):101–8.
- 37 Rink L, Kruse A, Haase H. *Immunologie für Einsteiger*. 2nd ed. Berlin: Springer Spektrum, 2015. 130 p.
- 38 Sayegh M, Turka L. The role of T-cell costimulatory activation pathways in transplant rejection. *N Engl J Med* 1998; 338(25):1813–21.
- 39 Krukemeyer et al., eds. *Transplantationsmedizin: Ein Leitfaden für den Praktiker // Transplantationsmedizin: De Gruyter; Walter de Gruyter GmbH Co.KG, 2006. ISBN: 3-11-018927-5.*
- 40 Luckheeram R, Zhou R, Verma A et al. CD4⁺T cells, Differentiation and functions. *Clin Dev Immunol* 2012; 2012:925135.
- 41 Leipe J, Chang H-D. Effektor-T-Zellen. *Z Rheumatol* 2015; 74(1):14–9.
- 42 Suzuki H, Lasbury M, Fan L et al. Role of complement activation in obliterative bronchiolitis post-lung transplantation. *J Immunol* 2013; 191(8):4431–9.
- 43 Fan L, Benson H, Vittal R et al. Neutralizing IL-17 prevents obliterative bronchiolitis in murine orthotopic lung transplantation. *Am J Transplant* 2011; 11(5):911–22.
- 44 Neujahr D, Larsen C. Regulatory T cells in lung transplantation--an emerging concept. *Semin Immunopathol* 2011; 33(2):117–27.
- 45 Hsiao H-M, Scozzi D, Gauthier J et al. Mechanisms of graft rejection after lung transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2017; 22(1):29–35.
- 46 Zhou W, Zhou X, Gaowa S et al. The Critical Role of Induced CD4⁺ FoxP3⁺ Regulatory Cells in Suppression of Interleukin-17 Production and Attenuation of Mouse Orthotopic Lung Allograft Rejection. *Transplantation* 2015; 99(7):1356–64.
- 47 den Hengst W, Gielis J, Lin J et al. Lung ischemia-reperfusion injury, A molecular and clinical view on a complex pathophysiological process. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 299(5):H1283-99.

- 48 Porteous M, Diamond J, Christie J. Primary graft dysfunction, Lessons learned about the first 72 h after lung transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2015; 20(5):506–14.
- 49 Laubach V, Sharma A. Mechanisms of lung ischemia-reperfusion injury. *Curr Opin Organ Transplant* 2016; 21(3):246–52.
- 50 Tsung A, Sahai R, Tanaka H et al. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201(7):1135–43.
- 51 Kreisel D, Goldstein D. Innate immunity and organ transplantation, Focus on lung transplantation. *Transpl Int* 2013; 26(1):2–10.
- 52 Braza F, Brouard S, Chadban S et al. Role of TLRs and DAMPs in allograft inflammation and transplant outcomes. *Nat Rev Nephrol* 2016; 12(5):281–90.
- 53 Scozzi D, Ibrahim M, Menna C et al. The Role of Neutrophils in Transplanted Organs. *Am J Transplant* 2017; 17(2):328–35.
- 54 Kish D, Gorbachev A, Parameswaran N et al. Neutrophil expression of Fas ligand and perforin directs effector CD8 T cell infiltration into antigen-challenged skin. *J Immunol* 2012; 189(5):2191–202.
- 55 McCaffrey P, Perrino B, Soderling T et al. NF-ATp, a T lymphocyte DNA-binding protein that is a target for calcineurin and immunosuppressive drugs. *J Biol Chem* 1993; 268(5):3747–52.
- 56 Wood K, Goto R. Mechanisms of rejection, Current perspectives. *Transplantation* 2012; 93(1):1–10.
- 57 Sweet S. Induction therapy in lung transplantation. *Transpl Int* 2013; 26(7):696–703.
- 58 Corris P. Induction Therapy in Lung Transplantation? A Frustrating Message of Persisting Uncertainty. *Am J Transplant* 2016; 16(8):2250–1.
- 59 Hachem R, Edwards L, Yusef R et al. The impact of induction on survival after lung transplantation, An analysis of the International Society for Heart and Lung Transplantation Registry. *Clin Transplant* 2008; 22(5):603–8.
- 60 Furuya Y, Jayarajan S, Taghavi S et al. The Impact of Alemtuzumab and Basiliximab Induction on Patient Survival and Time to Bronchiolitis Obliterans

- Syndrome in Double Lung Transplantation Recipients. *Am J Transplant* 2016; 16(8):2334–41.
- 61 Shyu S, Dew M, Pilewski J et al. Five-year outcomes with alemtuzumab induction after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30(7):743–54.
- 62 The International Society for Heart & Lung Transplantation. *Adult Lung Transplantation Statistics, Heart/Lung Registries*, 2017.
- 63 Brock M, Borja M, Ferber L et al. Induction therapy in lung transplantation, A prospective, controlled clinical trial comparing OKT3, anti-thymocyte globulin, and daclizumab. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20(12):1282–90.
- 64 Hartwig M, Snyder L, Appel J et al. Rabbit anti-thymocyte globulin induction therapy does not prolong survival after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2008; 27(5):547–53.
- 65 Snell G, Westall G, Levvey B et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study of rabbit ATG in the prophylaxis of acute rejection in lung transplantation. *Am J Transplant* 2014; 14(5):1191–8.
- 66 Hachem R, Yusef R, Chakinala M et al. A randomized controlled trial of tacrolimus versus cyclosporine after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26(10):1012–8.
- 67 Keenan R, Konishi H, Kawai A et al. Clinical trial of tacrolimus versus cyclosporine in lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1995; 60(3):580-4; discussion 584-5.
- 68 Treede H, Klepetko W, Reichenspurner H et al. Tacrolimus versus cyclosporine after lung transplantation, A prospective, open, randomized two-center trial comparing two different immunosuppressive protocols. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20(5):511–7.
- 69 Treede H, Glanville A, Klepetko W et al. Tacrolimus and cyclosporine have differential effects on the risk of development of bronchiolitis obliterans syndrome, Results of a prospective, randomized international trial in lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2012; 31(8):797–804.

- 70 Penninga L, Penninga E, Møller C et al. Tacrolimus versus cyclosporin as primary immunosuppression for lung transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev*: 5:CD008817.
- 71 Speich R, Schneider S, Hofer M et al. Mycophenolate mofetil reduces alveolar inflammation, acute rejection and graft loss due to bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Pulm Pharmacol Ther* 2010; 23(5):445–9.
- 72 Zuckermann A, Klepetko W, Birsan T et al. Comparison between mycophenolate mofetil- and azathioprine-based immunosuppressions in clinical lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 1999; 18(5):432–40.
- 73 Ross D, Waters P, Levine M et al. Mycophenolate mofetil versus azathioprine immunosuppressive regimens after lung transplantation, Preliminary experience. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17(8):768–74.
- 74 Palmer S, Baz M, Sanders L et al. Results of a randomized, prospective, multicenter trial of mycophenolate mofetil versus azathioprine in the prevention of acute lung allograft rejection. *Transplantation* 2001; 71(12):1772–6.
- 75 McNeil K, Glanville A, Wahlers T et al. Comparison of mycophenolate mofetil and azathioprine for prevention of bronchiolitis obliterans syndrome in de novo lung transplant recipients. *Transplantation* 2006; 81(7):998–1003.
- 76 Wagner M, Earley A, Webster A et al. Mycophenolic acid versus azathioprine as primary immunosuppression for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev*: 12:CD007746.
- 77 Kobashigawa J, Miller L, Renlund D et al. A randomized active-controlled trial of mycophenolate mofetil in heart transplant recipients. Mycophenolate Mofetil Investigators. *Transplantation* 1998; 66(4):507–15.
- 78 Sehgal S. Rapamune® (RAPA, rapamycin, sirolimus), Mechanism of action immunosuppressive effect results from blockade of signal transduction and inhibition of cell cycle progression. *Clinical Biochemistry* 1998; 31(5):335–40.
- 79 Fine N, Kushwaha S. Recent Advances in Mammalian Target of Rapamycin Inhibitor Use in Heart and Lung Transplantation. *Transplantation* 2016; 100(12):2558–68.

- 80 King-Biggs M, Dunitz J, Park S et al. Airway anastomotic dehiscence associated with use of sirolimus immediately after lung transplantation. *Transplantation* 2003; 75(9):1437–43.
- 81 Groetzner J, Kur F, Spelsberg F et al. Airway anastomosis complications in de novo lung transplantation with sirolimus-based immunosuppression. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 2004; 23(5):632–8.
- 82 Roman A, Ussetti P, Zurbano F et al. A retrospective 12-month study of conversion to everolimus in lung transplant recipients. *Transplant Proc* 2011; 43(7):2693–8.
- 83 Pablo A de, Santos F, Solé A et al. Recommendations on the use of everolimus in lung transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 2013; 27(1):9–16.
- 84 Snell G, Levvey B, Chin W et al. Sirolimus allows renal recovery in lung and heart transplant recipients with chronic renal impairment. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21(5):540–6.
- 85 Snell G, Valentine V, Vitulo P et al. Everolimus versus azathioprine in maintenance lung transplant recipients, An international, randomized, double-blind clinical trial. *Am J Transplant* 2006; 6(1):169–77.
- 86 Schneer S, Kramer M, Fox B et al. Renal function preservation with the mTOR inhibitor, Everolimus, after lung transplant. *Clin Transplant* 2014; 28(6):662–8.
- 87 Porhownik N. Airway complications post lung transplantation. *Curr Opin Pulm Med* 2013; 19(2):174–80.
- 88 Shennib H, Massard G. Airway complications in lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1994; 57(2):506–11.
- 89 Awori Hayanga J, Aboagye J, Shigemura N et al. Airway complications after lung transplantation, Contemporary survival and outcomes. *J Heart Lung Transplant* 2016; 35(10):1206–11.
- 90 Kroegel C, Hekmat K, Möser A et al. Atemwegskomplikationen nach Lungentransplantation - Klinik, Diagnose und interventionelle Behandlung. *Pneumologie* 2011; 65(5):293–307.
- 91 Mahajan A, Folch E, Khandhar S et al. The Diagnosis and Management of Airway Complications Following Lung Transplantation. *Chest* 2017; 152(3):627–38.

- 92 Nicolls M, Zamora M. Bronchial blood supply after lung transplantation without bronchial artery revascularization. *Curr Opin Organ Transplant* 2010; 15(5):563–7.
- 93 Christie J, Carby M, Bag R et al. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction part II, Definition. A consensus statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24(10):1454–9.
- 94 Snell G, Yusef R, Weill D et al. Report of the ISHLT Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction, part I, Definition and grading-A 2016 Consensus Group statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2017; 36(10):1097–103.
- 95 Diamond J, Arcasoy S, Kennedy C et al. Report of the International Society for Heart and Lung Transplantation Working Group on Primary Lung Graft Dysfunction, part II, Epidemiology, risk factors, and outcomes-A 2016 Consensus Group statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2017; 36(10):1104–13.
- 96 Christie J, Bellamy S, Ware L et al. Construct validity of the definition of primary graft dysfunction after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29(11):1231–9.
- 97 Whitson B, Nath D, Johnson A et al. Risk factors for primary graft dysfunction after lung transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2006; 131(1):73–80.
- 98 Prekker M, Nath D, Walker A et al. Validation of the proposed International Society for Heart and Lung Transplantation grading system for primary graft dysfunction after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25(4):371–8.
- 99 Diamond J, Lee J, Kawut S et al. Clinical risk factors for primary graft dysfunction after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 187(5):527–34.
- 100 Kreisel D, Krupnick A, Puri V et al. Short- and long-term outcomes of 1000 adult lung transplant recipients at a single center. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 141(1):215–22.

- 101 Daud S, Yusen R, Meyers B et al. Impact of immediate primary lung allograft dysfunction on bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175(5):507–13.
- 102 Huang H, Yusen R, Meyers B et al. Late primary graft dysfunction after lung transplantation and bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2008; 8(11):2454–62.
- 103 van Raemdonck D, Hartwig M, Hertz M et al. Report of the ISHLT Working Group on primary lung graft dysfunction Part IV, Prevention and treatment: A 2016 Consensus Group statement of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2017; 36(10):1121–36.
- 104 Burguete S, Maselli D, Fernandez J et al. Lung transplant infection. *Respirology* 2013; 18(1):22–38.
- 105 Bando K, Paradis I, Komatsu K et al. Analysis of time-dependent risks for infection, rejection, and death after pulmonary transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1995; 109(1):49-57; discussion 57-9.
- 106 Aguilar-Guisado M, Givaldá J, Ussetti P et al. Pneumonia after lung transplantation in the RESITRA Cohort, A multicenter prospective study. *Am J Transplant* 2007; 7(8):1989–96.
- 107 Parada M, Alba A, Sepúlveda C. Early and late infections in lung transplantation patients. *Transplant Proc* 2010; 42(1):333–5.
- 108 Yun J, Lee S-O, Jo K-W et al. Infections after lung transplantation, Time of occurrence, sites, and microbiologic etiologies. *Korean J Intern Med* 2015; 30(4):506–14.
- 109 Kotton C, Kumar D, Caliendo A et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation* 2013; 96(4):333–60.
- 110 Alexander B, Tapson V. Infectious complications of lung transplantation. *Transplant Infect Dis* 2001; 3(3):128–37.
- 111 Zuk D, Humar A, Weinkauff J et al. An international survey of cytomegalovirus management practices in lung transplantation. *Transplantation* 2010; 90(6):672–6.

- 112 Hodson E, Ladhani M, Webster A et al. Antiviral medications for preventing cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev*: 2:CD003774.
- 113 Sommerwerck U, Rabis T, Fleimisch P et al. Lungentransplantation. *Herz* 2014; 39(1):74–83.
- 114 Solé A, Salavert M. Fungal infections after lung transplantation. *Curr Opin Pulm Med* 2009; 15(3):243–53.
- 115 Schaenman J, Rosso F, Austin J et al. Trends in invasive disease due to *Candida* species following heart and lung transplantation. *Transpl Infect Dis* 2009; 11(2):112–21.
- 116 Levine D, Glanville A, Aboyoun C et al. Antibody-mediated rejection of the lung, A consensus report of the International Society for Heart and Lung Transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2016; 35(4):397–406.
- 117 Westall G, Paraskeva M, Snell G. Antibody-mediated rejection. *Curr Opin Organ Transplant* 2015; 20(5):492–7.
- 118 Witt C, Gaut J, Yusef R et al. Acute antibody-mediated rejection after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32(10):1034–40.
- 119 Berry G, Burke M, Andersen C et al. Pathology of pulmonary antibody-mediated rejection, 2012 update from the Pathology Council of the ISHLT. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32(1):14–21.
- 120 Hachem R, Yusef R, Meyers B et al. Anti-human leukocyte antigen antibodies and preemptive antibody-directed therapy after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29(9):973–80.
- 121 Girnita A, Duquesnoy R, Yousem S et al. HLA-specific antibodies are risk factors for lymphocytic bronchiolitis and chronic lung allograft dysfunction. *Am J Transplant* 2005; 5(1):131–8.
- 122 Girnita A, McCurry K, Iacono A et al. HLA-specific antibodies are associated with high-grade and persistent-recurrent lung allograft acute rejection. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23(10):1135–41.
- 123 Lobo L, Aris R, Schmitz J et al. Donor-specific antibodies are associated with antibody-mediated rejection, acute cellular rejection, bronchiolitis obliterans

- syndrome, and cystic fibrosis after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32(1):70–7.
- 124 Lau C, Palmer S, Posther K et al. Influence of panel-reactive antibodies on posttransplant outcomes in lung transplant recipients. *Ann Thorac Surg* 2000; 69(5):1520–4.
- 125 Kim M, Townsend K, Wood I et al. Impact of pretransplant anti-HLA antibodies on outcomes in lung transplant candidates. *Am J Respir Crit Care Med* 2014; 189(10):1234–9.
- 126 Hadjiliadis D, Chaparro C, Reinsmoen N et al. Pre-transplant panel reactive antibody in lung transplant recipients is associated with significantly worse post-transplant survival in a multicenter study. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24(7 Suppl):S249-54.
- 127 Snyder L, Gray A, Reynolds J et al. Antibody desensitization therapy in highly sensitized lung transplant candidates. *Am J Transplant* 2014; 14(4):849–56.
- 128 Tinckam K, Keshavjee S, Chaparro C et al. Survival in sensitized lung transplant recipients with perioperative desensitization. *Am J Transplant* 2015; 15(2):417–26.
- 129 Benzimra M, Calligaro G, Glanville A. Acute rejection. *J Thorac Dis* 2017; 9(12):5440–57.
- 130 Sharples L, McNeil K, Stewart S et al. Risk factors for bronchiolitis obliterans, A systematic review of recent publications. *J Heart Lung Transplant* 2002; 21(2):271–81.
- 131 Schulman L, Weinberg A, McGregor C et al. Mismatches at the HLA-DR and HLA-B loci are risk factors for acute rejection after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(6 Pt 1):1833–7.
- 132 Quantz M, Bennett L, Meyer D et al. Does human leukocyte antigen matching influence the outcome of lung transplantation?, An analysis of 3,549 lung transplantations. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 2000; 19(5):473–9.

- 133 Zheng H, Zeevi A, McCurry K et al. The impact of pharmacogenomic factors on acute persistent rejection in adult lung transplant patients. *Transpl Immunol* 2005; 14(1):37–42.
- 134 Colobran R, Casamitjana N, Roman A et al. Copy number variation in the CCL4L gene is associated with susceptibility to acute rejection in lung transplantation. *Genes Immun* 2009; 10(3):254–9.
- 135 Palmer S, Klimecki W, Yu L et al. Genetic regulation of rejection and survival following human lung transplantation by the innate immune receptor CD14. *Am J Transplant* 2007; 7(3):693–9.
- 136 Zheng H, Burckart G, McCurry K et al. Interleukin-10 production genotype protects against acute persistent rejection after lung transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 2004; 23(5):541–6.
- 137 Shah N, Force S, Mitchell P et al. Gastroesophageal reflux disease is associated with an increased rate of acute rejection in lung transplant allografts. *Transplant Proc* 2010; 42(7):2702–6.
- 138 Martinu T, Pavlisko E, Chen D-F et al. Acute allograft rejection, Cellular and humoral processes. *Clin Chest Med* 2011; 32(2):295–310.
- 139 Dabbs A, Hoffman L, Iacono A et al. Are symptom reports useful for differentiating between acute rejection and pulmonary infection after lung transplantation? *Heart & Lung: The Journal of Acute and Critical Care* 2004; 33(6):372–80.
- 140 Guilinger R, Paradis I, Dauber J et al. The importance of bronchoscopy with transbronchial biopsy and bronchoalveolar lavage in the management of lung transplant recipients. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152(6 Pt 1):2037–43.
- 141 Tikkanen J, Lemström K, Halme M et al. Detailed analysis of cell profiles in peripheral blood, bronchoalveolar lavage fluid, and transbronchial biopsy specimens during acute rejection and cmv infection in lung and heart–lung allograft recipients. *Transplant Proc* 1999; 31(1-2):163–4.
- 142 Tikkanen J, Lemstrom K, Halme M et al. Cytological monitoring of peripheral blood, bronchoalveolar lavage fluid, and transbronchial biopsy specimens during acute rejection and cytomegalovirus infection in lung and heart-lung allograft recipients. *Clin Transplant* 2001; 15(2):77–88.

- 143 Trull A, Steel L, Cornelissen J et al. Association between blood eosinophil counts and acute cardiac and pulmonary allograft rejection. *J Heart Lung Transplant* 1998; 17(5):517–24.
- 144 van Muylem A, Mélot C, Antoine M et al. Role of pulmonary function in the detection of allograft dysfunction after heart-lung transplantation. *Thorax* 1997; 52(7):643–7.
- 145 Otulana B, Higenbottam T, Ferrari L et al. The Use of Home Spirometry in Detecting Acute Lung Rejection and Infection Following Heart-Lung Transplantation. *Chest* 1990; 97(2):353–7.
- 146 Millet B, Higenbottam T, Flower C et al. The radiographic appearances of infection and acute rejection of the lung after heart-lung transplantation. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140(1):62–7.
- 147 Gotway M, Dawn S, Sellami D et al. Acute rejection following lung transplantation, Limitations in accuracy of thin-section CT for diagnosis. *Radiology* 2001; 221(1):207–12.
- 148 Stewart S, Fishbein M, Snell G et al. Revision of the 1996 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of lung rejection. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26(12):1229–42.
- 149 Kukafka D, O'Brien G, Furukawa S et al. Surveillance bronchoscopy in lung transplant recipients. *Chest* 1997; 111(2):377–81.
- 150 Trulock E, Ettinger N, Brunt E et al. The Role of Transbronchial Lung Biopsy in the Treatment of Lung Transplant Recipients. *Chest* 1992; 102(4):1049–54.
- 151 McWilliams T, Williams T, Whitford H et al. Surveillance bronchoscopy in lung transplant recipients, Risk versus benefit. *J Heart Lung Transplant* 2008; 27(11):1203–9.
- 152 Glanville A, Aboyoun C, Havryk A et al. Severity of lymphocytic bronchiolitis predicts long-term outcome after lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177(9):1033–40.
- 153 Valentine V, Taylor D, Dhillon G et al. Success of lung transplantation without surveillance bronchoscopy. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20(2):259.

- 154 Valentine V, Gupta M, Weill D et al. Single-institution study evaluating the utility of surveillance bronchoscopy after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2009; 28(1):14–20.
- 155 Roden A, Aisner D, Allen T et al. Diagnosis of Acute Cellular Rejection and Antibody-Mediated Rejection on Lung Transplant Biopsies, A Perspective From Members of the Pulmonary Pathology Society. *Arch Pathol Lab Med* 2017; 141(3):437–44.
- 156 Chakinala M, Ritter J, Gage B et al. Reliability for grading acute rejection and airway inflammation after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24(6):652–7.
- 157 Colombat M, Groussard O, Lautrette A et al. Analysis of the different histologic lesions observed in transbronchial biopsy for the diagnosis of acute rejection. Clinicopathologic correlations during the first 6 months after lung transplantation. *Hum Pathol* 2005; 36(4):387–94.
- 158 Arcasoy S, Berry G, Marboe C et al. Pathologic interpretation of transbronchial biopsy for acute rejection of lung allograft is highly variable. *Am J Transplant* 2011; 11(2):320–8.
- 159 Bhorade S, Husain A, Liao C et al. Interobserver variability in grading transbronchial lung biopsy specimens after lung transplantation. *Chest* 2013; 143(6):1717–24.
- 160 Tiroke A, Bewig B, Haverich A. Bronchoalveolar lavage in lung transplantation. State of the art. *Clin Transplant* 1999; 13(2):131–57.
- 161 Speck N, Schuurmans M, Murer C et al. Diagnostic value of plasma and bronchoalveolar lavage samples in acute lung allograft rejection, Differential cytology. *Respir Res* 2016; 17(1):74.
- 162 Vanaudenaerde B, Dupont L, Wuyts W et al. The role of interleukin-17 during acute rejection after lung transplantation. *Eur Respir J* 2006; 27(4):779–87.
- 163 Riise G, Kjellström C, Ryd W et al. Inflammatory cells and activation markers in BAL during acute rejection and infection in lung transplant recipients, A prospective, longitudinal study. *Eur Respir J* 1997; 10(8):1742–6.

- 164 Greenland J, Jewell N, Gottschall M et al. Bronchoalveolar lavage cell immunophenotyping facilitates diagnosis of lung allograft rejection. *Am J Transplant* 2014; 14(4):831–40.
- 165 Laan M, Lindén A, Riise G. IL-16 in the airways of lung allograft recipients with acute rejection or obliterative bronchiolitis. *Clin Exp Immunol* 2003; 133(2):290–6.
- 166 Gregson A, Hoji A, Saggar R et al. Bronchoalveolar immunologic profile of acute human lung transplant allograft rejection. *Transplantation* 2008; 85(7):1056–9.
- 167 Rizzo M, SivaSai K, Smith M et al. Increased expression of inflammatory cytokines and adhesion molecules by alveolar macrophages of human lung allograft recipients with acute rejection, Decline with resolution of rejection. *J Heart Lung Transplant* 2000; 19(9):858–65.
- 168 Patella M, Anile M, Del Porto P et al. Role of cytokine profile in the differential diagnosis between acute lung rejection and pulmonary infections after lung transplantation†. *Eur J Cardiothorac Surg* 2015; 47(6):1031–6.
- 169 Rolfe M, Kunkel S, Lincoln P et al. Lung Allograft Rejection, Role of Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interleukin-6. *Chest* 1993; 103(2):133S.
- 170 Magnan A, Mege J, Escallier J et al. Balance between alveolar macrophage IL-6 and TGF-beta in lung-transplant recipients. Marseille and Montréal Lung Transplantation Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153(4 Pt 1):1431–6.
- 171 Magnan A, Mege J, Reynaud M et al. Monitoring of alveolar macrophage production of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in lung transplant recipients. Marseille and Montreal Lung Transplantation Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150(3):684–9.
- 172 Bhorade S, Yu A, Vigneswaran W et al. Elevation of interleukin-15 protein expression in bronchoalveolar fluid in acute lung allograft rejection. *Chest* 2007; 131(2):533–8.
- 173 Shi R, Yang J, Jaramillo A et al. Correlation between interleukin-15 and granzyme B expression and acute lung allograft rejection. *Transpl Immunol* 2004; 12(2):103–8.

- 174 Ross D, Moudgil A, Bagga A et al. Lung allograft dysfunction correlates with gamma-interferon gene expression in bronchoalveolar lavage. *J Heart Lung Transplant* 1999; 18(7):627–36.
- 175 Moudgil A, Bagga A, Toyoda M et al. Expression of gamma-IFN mRNA in bronchoalveolar lavage fluid correlates with early acute allograft rejection in lung transplant recipients. *Clin Transplant* 1999; 13(2):201–7.
- 176 Speck N, Schuurmans M, Benden C et al. Plasma and bronchoalveolar lavage samples in acute lung allograft rejection, The potential role of cytokines as diagnostic markers. *Respir Res* 2017; 18(1):151.
- 177 Khalifah A, Hachem R, Chakinala M et al. Minimal acute rejection after lung transplantation, A risk for bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2005; 5(8):2022–30.
- 178 Gray A, Mulvihill M, Hartwig M. Lung transplantation at Duke. *J Thorac Dis* 2016; 8(3):E185-96.
- 179 Glanville A. Bronchoscopic monitoring after lung transplantation. *Semin Respir Crit Care Med* 2010; 31(2):208–21.
- 180 Verleden G, Raghu G, Meyer K et al. A new classification system for chronic lung allograft dysfunction. *J Heart Lung Transplant* 2014; 33(2):127–33.
- 181 Verleden S, Vos R, Vanaudenaerde B et al. Chronic lung allograft dysfunction phenotypes and treatment. *J Thorac Dis* 2017; 9(8):2650–9.
- 182 Meyer K, Raghu G, Verleden G et al. An international ISHLT/ATS/ERS clinical practice guideline, Diagnosis and management of bronchiolitis obliterans syndrome. *Eur Respir J* 2014; 44(6):1479–503.
- 183 Vos R, Vanaudenaerde B, Ottevaere A et al. Long-term azithromycin therapy for bronchiolitis obliterans syndrome, Divide and conquer? *J Heart Lung Transplant* 2010; 29(12):1358–68.
- 184 Verleden G, Vanaudenaerde B, Dupont L et al. Azithromycin reduces airway neutrophilia and interleukin-8 in patients with bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174(5):566–70.

- 185 Gerhardt S, McDyer J, Girgis R et al. Maintenance azithromycin therapy for bronchiolitis obliterans syndrome, Results of a pilot study. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168(1):121–5.
- 186 Gottlieb J, Szangolies J, Koehnlein T et al. Long-term azithromycin for bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Transplantation* 2008; 85(1):36–41.
- 187 Vanaudenaerde B, Meyts I, Vos R et al. A dichotomy in bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation revealed by azithromycin therapy. *Eur Respir J* 2008; 32(4):832–43.
- 188 Federica M, Nadia S, Monica M et al. Clinical and immunological evaluation of 12-month azithromycin therapy in chronic lung allograft rejection. *Clin Transplant* 2011; 25(4):E381-9.
- 189 Corris P, Ryan V, Small T et al. A randomised controlled trial of azithromycin therapy in bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) post lung transplantation. *Thorax* 2015; 70(5):442–50.
- 190 Zheng L, Whitford H, Orsida B et al. The dynamics and associations of airway neutrophilia post lung transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6(3):599–608.
- 191 Verleden G, Vos R, Vanaudenaerde B et al. Current views on chronic rejection after lung transplantation. *Transpl Int* 2015; 28(10):1131–9.
- 192 Verleden S, Ruttens D, Vandermeulen E et al. Restrictive chronic lung allograft dysfunction, Where are we now? *J Heart Lung Transplant* 2015; 34(5):625–30.
- 193 Ofek E, Sato M, Saito T et al. Restrictive allograft syndrome post lung transplantation is characterized by pleuroparenchymal fibroelastosis. *Mod Pathol* 2013; 26(3):350–6.
- 194 Vos R, Verleden S, Ruttens D et al. Pirfenidone, A potential new therapy for restrictive allograft syndrome? *Am J Transplant* 2013; 13(11):3035–40.
- 195 Suhling H, Bollmann B, Gottlieb J. Nintedanib in restrictive chronic lung allograft dysfunction after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2016; 35(7):939–40.

- 196 Kohno M, Perch M, Andersen E et al. Treatment of intractable interstitial lung injury with alemtuzumab after lung transplantation. *Transplant Proc* 2011; 43(5):1868–70.
- 197 Verleden S, Todd J, Sato M et al. Impact of CLAD Phenotype on Survival After Lung Retransplantation, A Multicenter Study. *Am J Transplant* 2015; 15(8):2223–30.
- 198 Bankier A, van Muylem A, Knoop C et al. Bronchiolitis obliterans syndrome in heart-lung transplant recipients, Diagnosis with expiratory CT. *Radiology* 2001; 218(2):533–9.
- 199 Burton C, Iversen M, Carlsen J et al. Acute cellular rejection is a risk factor for bronchiolitis obliterans syndrome independent of post-transplant baseline FEV1. *J Heart Lung Transplant* 2009; 28(9):888–93.
- 200 El-Gamel A, Sim E, Hasleton P et al. Transforming growth factor beta (TGF- β) and obliterative bronchiolitis following pulmonary transplantation. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 1999; 18(9):828–37.
- 201 Khalifah A, Hachem R, Chakinala M et al. Respiratory viral infections are a distinct risk for bronchiolitis obliterans syndrome and death. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170(2):181–7.
- 202 Kumar D, Erdman D, Keshavjee S et al. Clinical impact of community-acquired respiratory viruses on bronchiolitis obliterans after lung transplant. *Am J Transplant* 2005; 5(8):2031–6.
- 203 Engelmann I, Welte T, Fühner T et al. Detection of Epstein-Barr virus DNA in peripheral blood is associated with the development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J Clin Virol* 2009; 45(1):47–53.
- 204 Neurohr C, Huppmann P, Leuchte H et al. Human herpesvirus 6 in bronchialveolar lavage fluid after lung transplantation, A risk factor for bronchiolitis obliterans syndrome? *Am J Transplant* 2005; 5(12):2982–91.
- 205 Paraskeva M, Bailey M, Levvey B et al. Cytomegalovirus replication within the lung allograft is associated with bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2011; 11(10):2190–6.

- 206 Valentine V, Gupta M, Walker J et al. Effect of etiology and timing of respiratory tract infections on development of bronchiolitis obliterans syndrome. *J Heart Lung Transplant* 2009; 28(2):163–9.
- 207 Botha P, Archer L, Anderson R et al. *Pseudomonas aeruginosa* colonization of the allograft after lung transplantation and the risk of bronchiolitis obliterans syndrome. *Transplantation* 2008; 85(5):771–4.
- 208 Vos R, Vanaudenaerde B, Vleeschauwer S de et al. De novo or persistent pseudomonal airway colonization after lung transplantation, Importance for bronchiolitis obliterans syndrome? *Transplantation* 2008; 86(4):624-5; author reply 635-6.
- 209 Weigt S, Elashoff R, Huang C et al. *Aspergillus* colonization of the lung allograft is a risk factor for bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2009; 9(8):1903–11.
- 210 Nawrot T, Vos R, Jacobs L et al. The impact of traffic air pollution on bronchiolitis obliterans syndrome and mortality after lung transplantation. *Thorax* 2011; 66(9):748–54.
- 211 Bhinder S, Chen H, Sato M et al. Air pollution and the development of posttransplant chronic lung allograft dysfunction. *Am J Transplant* 2014; 14(12):2749–57.
- 212 Wohlschläger J, Sommerwerck U, Jonigk D et al. Lungentransplantation und Abstoßung. Grundlagen, klinische Aspekte und Histomorphologie. *Pathologe* 2011; 32(2):104–12.
- 213 Kennedy V, Todd J, Palmer S. Bronchoalveolar lavage as a tool to predict, diagnose and understand bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant* 2013; 13(3):552–61.
- 214 Neurohr C, Huppmann P, Samweber B et al. Prognostic value of bronchoalveolar lavage neutrophilia in stable lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2009; 28(5):468–74.
- 215 DiGiovine B, Lynch J, Martinez F et al. Bronchoalveolar lavage neutrophilia is associated with obliterative bronchiolitis after lung transplantation, Role of IL-8. *J Immunol* 1996; 157(9):4194–202.

- 216 Elssner A, Jaumann F, Dobmann S et al. Elevated levels of interleukin-8 and transforming growth factor-beta in bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchiolitis obliterans syndrome, Proinflammatory role of bronchial epithelial cells. Munich Lung Transplant Group. *Transplantation* 2000; 70(2):362–7.
- 217 Mamessier E, Milhe F, Badier M et al. Comparison of induced sputum and bronchoalveolar lavage in lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25(5):523–32.
- 218 Finlen Copeland C, Snyder L, Zaas D et al. Survival after bronchiolitis obliterans syndrome among bilateral lung transplant recipients. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 182(6):784–9.
- 219 Vos R, Vanaudenaerde B, Verleden S et al. A randomised controlled trial of azithromycin to prevent chronic rejection after lung transplantation. *Eur Respir J* 2011; 37(1):164–72.
- 220 Ruttens D, Verleden S, Vandermeulen E et al. Prophylactic Azithromycin Therapy After Lung Transplantation, Post hoc Analysis of a Randomized Controlled Trial. *Am J Transplant* 2016; 16(1):254–61.
- 221 Verleden G, Verleden S, Vos R et al. Montelukast for bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation, A pilot study. *Transpl Int* 2011; 24(7):651–6.
- 222 Ruttens D, Verleden S, Vandermeulen E et al. Montelukast for Bronchiolitis Obliterans Syndrome After Lung Transplantation, A Randomized Controlled Trial. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 2016; 35(4):S43-S44.
- 223 Benden C, Haughton M, Leonard S et al. Therapy options for chronic lung allograft dysfunction-bronchiolitis obliterans syndrome following first-line immunosuppressive strategies, A systematic review. *J Heart Lung Transplant* 2017; 36(9):921–33.
- 224 Chang D, Hsu K, Ding Y et al. Interleukin-1 in ischemia-reperfusion acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156(4 Pt 1):1230–4.
- 225 Humbert M, Devergne O, Cerrina J et al. Activation of macrophages and cytotoxic cells during cytomegalovirus pneumonia complicating lung transplantations. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145(5):1178–84.

- 226 Verleden S, Ruttens D, Vos R et al. Differential cytokine, chemokine and growth factor expression in phenotypes of chronic lung allograft dysfunction. *Transplantation* 2015; 99(1):86–93.
- 227 Fisichella P, Davis C, Lowery E et al. Aspiration, localized pulmonary inflammation, and predictors of early-onset bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *J Am Coll Surg* 2013; 217(1):90-100; discussion 100-1.
- 228 Vanaudenaerde B, Wuyts W, Geudens N et al. Broncho-alveolar lavage fluid recovery correlates with airway neutrophilia in lung transplant patients. *Respir Med* 2008; 102(3):339–47.
- 229 Slebos D-J, Postma D, Koëter G et al. Bronchoalveolar lavage fluid characteristics in acute and chronic lung transplant rejection. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23(5):532–40.
- 230 Verleden S, Vos R, Vandermeulen E et al. Involvement of interleukin-17 during lymphocytic bronchiolitis in lung transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32(4):447–53.
- 231 Vanaudenaerde B, Vleeschauer S de, Vos R et al. The role of the IL23/IL17 axis in bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8(9):1911–20.
- 232 Criée C-P, Baur X, Berdel D et al. Leitlinie zur Spirometrie. Leitlinie der Deutschen Atemwegsliga, der Deutschen Gesellschaft für Pneumologie und Beatmungsmedizin und der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin zur Spirometrie. *Pneumologie* 2015; 69(3):147–64.
- 233 Miller M, Hankinson J, Brusasco V et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26(2):319–38.
- 234 Husain S, Mooney M, Danziger-Isakov L et al. A 2010 working formulation for the standardization of definitions of infections in cardiothoracic transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30(4):361–74.
- 235 Humar A, Michaels M. American Society of Transplantation recommendations for screening, monitoring and reporting of infectious complications in immunosuppression trials in recipients of organ transplantation. *Am J Transplant* 2006; 6(2):262–74.

- 236 Ljungman P, Boeckh M, Hirsch H et al. Definitions of Cytomegalovirus Infection and Disease in Transplant Patients for Use in Clinical Trials. *Clin Infect Dis* 2017; 64(1):87–91.
- 237 Estenne M, Maurer J, Boehler A et al. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001, An update of the diagnostic criteria. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 2002; 21(3):297–310.
- 238 Hopkins P, Aboyoun C, Chhajed P et al. Association of minimal rejection in lung transplant recipients with obliterative bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170(9):1022–6.
- 239 Deutsche Stiftung Organtransplantation. DSO: Zahlen zur Organspende und -transplantation, 2017.
- 240 Valapour M, Skeans M, Smith J et al. OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report: Lung. *Am J Transplant* 2017; 17 Suppl 1:357–424.
- 241 Schuba B, Scheklinski M, Dossow V v. et al. Five-year experience using the Lung Allocation Score: the Munich Lung Transplant Group. *Eur J Cardiothorac Surg* 2018; 54(2):328–33.
- 242 Fakhro M, Broberg E, Algotsson L et al. Double lung, unlike single lung transplantation might provide a protective effect on mortality and bronchiolitis obliterans syndrome. *J Cardiothorac Surg* 2017; 12(1):100.
- 243 Kneidinger N, Holzborn J, Czerner S et al. Evaluation of Short-Term Outcome after Lung Transplantation in the Lung Allocation Score Era. *Thorac Cardiovasc Surg* 2015; 63(8):693–8.
- 244 Thabut G, Mal H. Outcomes after lung transplantation. *J Thorac Dis* 2017; 9(8):2684–91.
- 245 Roithmaier S, Haydon A, Loi S et al. Incidence of malignancies in heart and/or lung transplant recipients: a single-institution experience. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26(8):845–9.
- 246 Gerbase M, Spiliopoulos A, Rochat T et al. Health-related quality of life following single or bilateral lung transplantation: a 7-year comparison to functional outcome. *Chest* 2005; 128(3):1371–8.

- 247 Hadjiliadis D, Chaparro C, Gutierrez C et al. Impact of lung transplant operation on bronchiolitis obliterans syndrome in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Transplant* 2006; 6(1):183–9.
- 248 Hadjiliadis D, Davis R, Palmer S. Is transplant operation important in determining posttransplant risk of bronchiolitis obliterans syndrome in lung transplant recipients? *Chest* 2002; 122(4):1168–75.
- 249 Fakhro M, Ingemansson R, Algotsson L et al. Impact of Forced Expiratory Volume in 1 Second (FEV1) and 6-Minute Walking Distance at 3, 6, and 12 Months and Annually on Survival and Occurrence of Bronchiolitis Obliterans Syndrome (BOS) After Lung Transplantation. *Ann Transplant* 2017; 22:532–40.
- 250 Trulock E, Edwards L, Taylor D et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-second official adult lung and heart-lung transplant report--2005. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24(8):956–67.
- 251 Yusen R, Christie J, Edwards L et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirtieth Adult Lung and Heart-Lung Transplant Report--2013; focus theme: age. *J Heart Lung Transplant* 2013; 32(10):965–78.
- 252 Nalysnyk L, Cid-Ruzafa J, Rotella P et al. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis: review of the literature. *Eur Respir Rev* 2012; 21(126):355–61.
- 253 Raghu G, Chen S-Y, Yeh W-S et al. Idiopathic pulmonary fibrosis in US Medicare beneficiaries aged 65 years and older: incidence, prevalence, and survival, 2001–11. *The Lancet Respiratory Medicine* 2014; 2(7):566–72.
- 254 Hayanga A, Aboagye J, Hayanga H et al. Contemporary analysis of early outcomes after lung transplantation in the elderly using a national registry. *J Heart Lung Transplant* 2015; 34(2):182–8.
- 255 Lehto J, Koskinen P, Anttila V-J et al. Bronchoscopy in the diagnosis and surveillance of respiratory infections in lung and heart-lung transplant recipients. *Transpl Int* 2005; 18(5):562–71.
- 256 Speich R, van der Bij W. Epidemiology and management of infections after lung transplantation. *Clin Infect Dis* 2001; 33 Suppl 1:S58-65.

- 257 Solé A, Morant P, Salavert M et al. Aspergillus infections in lung transplant recipients: risk factors and outcome. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(5):359–65.
- 258 Vazquez R, Vazquez-Guillamet M, Suarez J et al. Invasive mold infections in lung and heart-lung transplant recipients: Stanford University experience. *Transpl Infect Dis* 2015; 17(2):259–66.
- 259 Clark N, Weigt S, Fishbein M et al. Fungal Infections Complicating Lung Transplantation. *Semin Respir Crit Care Med* 2018; 39(2):227–54.
- 260 Gottlieb J. Community-Acquired Respiratory Viruses. *Semin Respir Crit Care Med* 2018; 39(2):213–8.
- 261 Garbino J, Soccac P, Aubert J-D et al. Respiratory viruses in bronchoalveolar lavage: a hospital-based cohort study in adults. *Thorax* 2009; 64(5):399–404.
- 262 Gottlieb J, Schulz T, Welte T et al. Community-acquired respiratory viral infections in lung transplant recipients: a single season cohort study. *Transplantation* 2009; 87(10):1530–7.
- 263 Kumar D, Husain S, Chen M et al. A prospective molecular surveillance study evaluating the clinical impact of community-acquired respiratory viruses in lung transplant recipients. *Transplantation* 2010; 89(8):1028–33.
- 264 Shalhoub S, Husain S. Community-acquired respiratory viral infections in lung transplant recipients. *Curr Opin Infect Dis* 2013; 26(4):302–8.
- 265 Gregson A. Infectious Triggers of Chronic Lung Allograft Dysfunction. *Curr Infect Dis Rep* 2016; 18(7):21.
- 266 Husain A, Siddiqui M, Holmes E et al. Analysis of risk factors for the development of bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159(3):829–33.
- 267 Koutsokera A, Levy L, Pal P et al. Acute Cellular Rejection: Is It Still Relevant? *Semin Respir Crit Care Med* 2018; 39(2):181–98.
- 268 Chakinala M, Ritter J, Gage B et al. Yield of surveillance bronchoscopy for acute rejection and lymphocytic bronchitis/bronchiolitis after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23(12):1396–404.

- 269 Sandrini A, Glanville A. The controversial role of surveillance bronchoscopy after lung transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2009; 14(5):494–8.
- 270 Glanville A. The role of surveillance bronchoscopy post-lung transplantation. *Semin Respir Crit Care Med* 2013; 34(3):414–20.
- 271 Verleden S, Ruttens D, Vandermeulen E et al. Bronchiolitis obliterans syndrome and restrictive allograft syndrome: do risk factors differ? *Transplantation* 2013; 95(9):1167–72.
- 272 Yamamoto S, Nava R, Zhu J et al. Cutting edge: *Pseudomonas aeruginosa* abolishes established lung transplant tolerance by stimulating B7 expression on neutrophils. *J Immunol* 2012; 189(9):4221–5.
- 273 Shields R, Clancy C, Minces L et al. *Staphylococcus aureus* infections in the early period after lung transplantation: epidemiology, risk factors, and outcomes. *J Heart Lung Transplant* 2012; 31(11):1199–206.
- 274 Kennedy C, Razonable R. Fungal Infections After Lung Transplantation. *Clin Chest Med* 2017; 38(3):511–20.
- 275 Larcher C, Geltner C, Fischer H et al. Human metapneumovirus infection in lung transplant recipients: clinical presentation and epidemiology. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24(11):1891–901.
- 276 Vilchez R, McCurry K, Dauber J et al. Influenza and parainfluenza respiratory viral infection requiring admission in adult lung transplant recipients. *Transplantation* 2002; 73(7):1075–8.
- 277 Sayah D, Koff J, Leard L et al. Rhinovirus and other respiratory viruses exert different effects on lung allograft function that are not mediated through acute rejection. *Clin Transplant* 2013; 27(1):E64-71.
- 278 Soccal P, Aubert J-D, Bridevaux P-O et al. Upper and lower respiratory tract viral infections and acute graft rejection in lung transplant recipients. *Clin Infect Dis* 2010; 51(2):163–70.
- 279 Bridevaux P-O, Aubert J-D, Soccal P et al. Incidence and outcomes of respiratory viral infections in lung transplant recipients: a prospective study. *Thorax* 2014; 69(1):32–8.

- 280 Milstone A, Brumble L, Barnes J et al. A single-season prospective study of respiratory viral infections in lung transplant recipients. *Eur Respir J* 2006; 28(1):131–7.
- 281 Vu D-L, Bridevaux P-O, Aubert J-D et al. Respiratory viruses in lung transplant recipients: a critical review and pooled analysis of clinical studies. *Am J Transplant* 2011; 11(5):1071–8.
- 282 Mohanka M, Mehta A, Budev M et al. Impact of bedside bronchoscopy in critically ill lung transplant recipients. *J Bronchology Interv Pulmonol* 2014; 21(3):199–207.
- 283 Stephenson A, Flint J, English J et al. Interpretation of transbronchial lung biopsies from lung transplant recipients: inter- and intraobserver agreement. *Can Respir J* 2005; 12(2):75–7.
- 284 Gordon I, Borhade S, Vigneswaran W et al. SaLUTaRy: survey of lung transplant rejection. *J Heart Lung Transplant* 2012; 31(9):972–9.
- 285 Vos R, Vanaudenaerde B, Verleden S et al. Bronchoalveolar lavage neutrophilia in acute lung allograft rejection and lymphocytic bronchiolitis. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29(11):1259–69.
- 286 Vos R, Verleden S, Ruttens D et al. Azithromycin and the treatment of lymphocytic airway inflammation after lung transplantation. *Am J Transplant* 2014; 14(12):2736–48.
- 287 Yousem S. Graft eosinophilia in lung transplantation. *Hum Pathol* 1992; 23(10):1172–7.
- 288 Mogayzel P, Yang S, Wise B et al. Eosinophilic infiltrates in a pulmonary allograft: a case and review of the literature. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 2001; 20(6):692–5.
- 289 Verleden S, Ruttens D, Vandermeulen E et al. Elevated bronchoalveolar lavage eosinophilia correlates with poor outcome after lung transplantation. *Transplantation* 2014; 97(1):83–9.
- 290 Nakajima T, Palchevsky V, Perkins D et al. Lung transplantation: infection, inflammation, and the microbiome. *Semin Immunopathol* 2011; 33(2):135–56.
- 291 Boehler A. The role of interleukin-10 in lung transplantation. *Transpl Immunol* 2002; 9(2-4):121–4.

- 292 Naidu B, Krishnadasan B, Whyte R et al. Regulatory Role of IL-10 in Experimental Obliterative Bronchiolitis in Rats. *Experimental and Molecular Pathology* 2002; 73(3):164–70.
- 293 Shilling R, Wilkes D. Role of Th17 cells and IL-17 in lung transplant rejection. *Semin Immunopathol* 2011; 33(2):129–34.
- 294 McGeachy M, Cua D, Gaffen S. The IL-17 Family of Cytokines in Health and Disease. *Immunity* 2019; 50(4):892–906.
- 295 Snell G, Levvey B, Zheng L et al. Interleukin-17 and airway inflammation: a longitudinal airway biopsy study after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26(7):669–74.
- 296 Husain S, Resende M, Rajwans N et al. Elevated CXCL10 (IP-10) in bronchoalveolar lavage fluid is associated with acute cellular rejection after human lung transplantation. *Transplantation* 2014; 97(1):90–7.
- 297 Banks R. Measurement of cytokines in clinical samples using immunoassays: problems and pitfalls. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2000; 37(2):131–82.
- 298 Parnham M, Erakovic Haber V, Giamarellos-Bourboulis E et al. Azithromycin: mechanisms of action and their relevance for clinical applications. *Pharmacol Ther* 2014; 143(2):225–45.

Der Lebenslauf wurde aus der elektronischen Version der Arbeit entfernt.

The curriculum vitae was removed from the electronic version of the paper.

9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen herzlich danken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. med. Konstantin Mayer danke ich für die Überlassung des interessanten Promotionsthemas, seine Anregungen und konstruktive Kritik, sein Engagement und Durchhaltevermögen, sein entgegengebrachtes Vertrauen und die gute Zusammenarbeit.

Ich möchte mich bei Frau Andrea Mohr für ihre Unterstützung, Hilfestellung und außerordentliche Kooperationsbereitschaft bedanken.

Frau Susan Scheibe danke ich für ihre Ideen und Anregungen.

Für die kollegiale Zusammenarbeit und Unterstützung möchte ich mich bei dem gesamten Team der Bronchoskopie bedanken. Des Weiteren gilt mein Dank dem Institut für Radiologie, Pathologie, Infektiologie, Zytologie, Mikrobiologie und Virologie für die freundliche Bereitstellung der für diese Arbeit benötigten Daten.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mich unermüdlich motiviert und unterstützt haben und ohne deren Beitrag und hervorragende kulinarische Versorgung ein Gelingen dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

10. Eidesstattliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort, Datum

Unterschrift